

Das Verhalten
kationenaktiver Antiseptika in
Unguentum emulsificans aquosum

von

KARL THOMA

Das Verhalten kationenaktiver Antiseptika
in Unguentum emulsificans aquosum

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München



vorgelegt
von
Karl THOMA
aus
Rehau/Bayern

Dezember 1958

Berichterstatter: 1) Privatdozentin Dr.E.ULLMANN

2) Professor Dr.E.BAMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Jan. 1959

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München (Direktor: Professor Dr.Eugen BAMANN) in der Zeit von Januar 1956 bis November 1958 durchgeführt.

Meiner hochverehrten akademischen Lehrerin, Frau Privatdozentin Dr.Elsa ULLMANN, unter deren Leitung diese Arbeit entstand, danke ich herzlich für die wissenschaftliche Anregung und unermüdliche Betreuung.

Ergebensten Dank schulde ich ferner Herrn Professor Dr.Eugen BAMANN für die tatkräftige Unterstützung und für das verständnisvolle Wohlwollen, welches er mir in wissenschaftlichen und persönlichen Dingen stets zuteil werden liess.

Herrn Professor Dr.Ludwig HÖRHAMMER, Direktor des Instituts für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, danke ich für Anregungen aus wissenschaftlichen Exkursionen sowie für die freundliche Erlaubnis zur Benutzung der Institutsbibliothek.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, Herrn Professor Dr.Adolf MEYN, Direktor des Tierhygienischen Instituts der Universität München, für die Förderung meiner Arbeit durch seinen akademischen Unterricht herzlich zu danken.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. <u>Einleitung</u>	1
B. <u>Darlegung der Ergebnisse</u>	2
I. Chemische Reaktionsverhältnisse . .	2
1) Reaktionen zwischen kationenaktiven Antiseptika und Natrium cetylstearylosulfuricum	2
2) Auswirkungen auf die Salbengrundlage	3
II. Wirksamkeit kationenaktiver Antiseptika in Unguentum emulsificans aquosum	4
1) Die Beeinflussung der antiseptischen Wirksamkeit	4
2) Ursachen der unterschiedlichen Beeinflussung	11
III. Therapie mit kationenaktiven Antiseptika in abwaschbaren Salben . . .	14
1) Die Wirksamkeit der Antiseptika in Unguentum emulsificans aquosum und in indifferenten Salbengrundlagen	14
2) Konsistenz und Stabilität der Zubereitungen	16
C. <u>Experimenteller Teil</u>	21
I. Untersuchung der chemischen Reaktionsverhältnisse	21
1) Gravimetrische Bestimmung des Schwefelgehaltes	21
2) Maßanalytische Bestimmung der kationenaktiven Substanz	22
II. Ein Titrationsverfahren zur quantitativen Bestimmung ionogener oberflächenaktiver Substanzen	23
1) Quantitative Bestimmung kationenaktiver Arzneistoffe	24
2) Gehaltsbestimmung von Natrium cetylstearylosulfuricum	24

III. Bakteriologische Untersuchungen mit Hilfe des Agar-Diffusionstestes	26
1) Phenylquecksilber-azetat	26
2) 8-Oxychinolin-sulfat	27
3) Trypaflavin (R)	27
4) Neomycin B-Sulfat	30
5) 8-Phenoxyäthyl-dimethyl-dodecyl- ammoniumbromid (Bradosol (R)) . . .	32
6) Dodecyl-triphenyl-phosphonium- bromid (Myxal (R))	33
7) Dodecyl-dimethyl-3,4-dichlor- benzyl-ammoniumchlorid (Riseptin (R))	35
8) Dodecyl-di(aminoäthyl)glycin-hydro- chlorid (Tego 103 S (R))	37
9) 2-Äthoxy-6,9-diaminoacridin-lak- tat (Rivanol (R))	40
IV. Die Methodik bei der Untersuchung von Salben	41
1) Überprüfung der gebräuchlichsten Methoden auf ihre Eignung	41
2) Diffusionsvorgang und Hemmhofgrösse	42
3) Beeinflussung der Untersuchungser- gebnisse durch die Arbeitstechnik	46
4) Eine modifizierte Methode des Agar- Diffusionstestes	52

D. Literaturverzeichnis

A. Einführung

Die Erforschung der Auswirkungen einer Salbengrundlage auf die arzneiliche Wirksamkeit inkorporierter Pharmaka gewinnt um so mehr an Bedeutung, als es augenfällig wird, dass der therapeutische Wert jeder Salbenzubereitung in hohem Maße von der Wahl der Grundlage abhängig ist.

Neben physikalisch-chemischen Eigenschaften der Grundlagen (1,8,10,15,16,17,22,25,27,46,61,69,72) sind vor allem die Beeinflussungen der Wirksamkeit infolge chemischer Reaktionen zwischen Grundlage und inkorporiertem Arzneistoff zu berücksichtigen (5,6,19,21,24,26,29,32,36,44,45,47,48,49,50,52,67,69).

Anionenaktive Hilfsstoffe reagieren mit kationenaktiven Arzneistoffen. Diese Reaktion kann Unverträglichkeit, z.B. Verflüssigung oder Brechen einer Emulsion, deutlich sichtbar werden lassen. In vielen Fällen tritt jedoch keine äusserlich erkennbare Veränderung ein. Der arzneiliche Wert solcher Zubereitungen findet in der Literatur unterschiedliche Beurteilung.

Am Beispiel kationenaktiver Antiseptika wird in der vorliegenden Arbeit der Einfluss des in der Salbengrundlage Unguentum emulsificans aquosum enthaltenen anionenaktiven Netzers Natrium cetylstearylosulfuricum auf die Wirksamkeit einer Anzahl in diese Stoffgruppe gehörender Arzneistoffe untersucht.

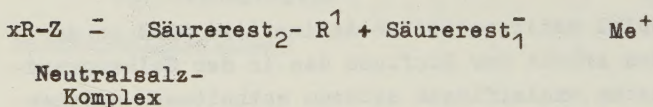
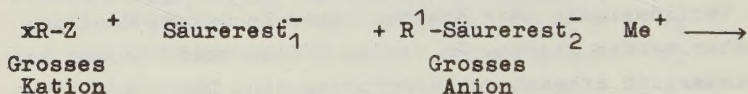
Unter Zugrundelegung eines modifizierten Agar-Diffusions-Testes für die vergleichenden bakteriologischen Untersuchungen ergeben sich Aufklärung einer Reihe von latenten Fragen spezieller Art und allgemeine Erkenntnisse für die Therapie und für die Verfahrenstechnik.

B. Darlegung der Ergebnisse

I. Chemische Reaktionsverhältnisse

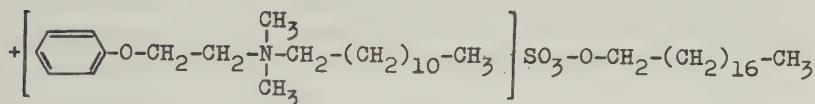
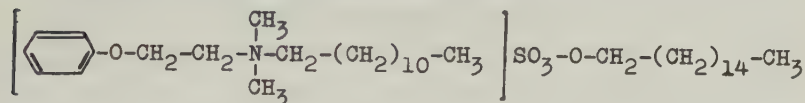
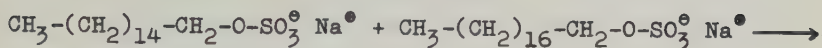
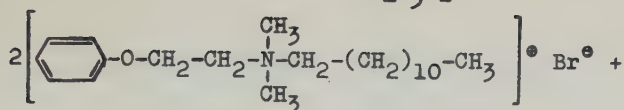
1) Reaktionen zwischen kationenaktiven Antiseptika und Natrium cetylstearylosulfuricum

Die Reaktionen zwischen kationenaktiven Antiseptika und Natrium cetylstearylosulfuricum beruhen darauf, dass die grossen Kationen der Antiseptika mit den grossen Anionen des Natrium cetylstearylosulfuricum zu schwerlöslichen Kationen-Anionenverbindungen zusammentreten. Der Reaktionsablauf lässt sich nach B.WURZSCHMITT (73) wie folgt allgemein formulieren:



Natrium cetylstearylosulfuricum (Nachtrag 1958 zum DAB 6) besteht in seiner aktiven Substanz ⁺) aus etwa gleichen Teilen Natriumcetylsulfat $C_{16}H_{33}OSO_3Na$ Mol.Gew. 344,49 und Natriumstearylsulfat $C_{18}H_{37}OSO_3Na$ Mol.Gew. 372,53 (mittleres Mol.Gew. 358,5). Die Umsetzungen des anionenaktiven Netzers mit kationenaktiven Antiseptika seien am Beispiel der Invertseife β -Phenoxyäthyl-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid (Bradosol [®]) dargelegt:

⁺) Geforderter Mindestgehalt an aktiver Substanz:
80% Cetylstearylschwefelsaures Natrium; darüber hinaus sind höchstens 11% freie Fettalkohole gestattet.



2) Auswirkungen auf die Salbengrundlage

Verarbeitet man kationenaktive Antiseptika mit Unguentum emulsificans aquosum ⁺), so zeigt sich je nach Konzentration des Antiseptikums ein verschiedenes Bild. Hohe Konzentrationen führen zur Verflüssigung oder zum Brechen der Emulsion, niedrigere Konzentrationen sind ohne Einfluss auf Aussehen und Konsistenz der Salbe.

⁺) Zusammensetzung der Unguentum emulsificans aquosum:

	Unguentum emulsificans	300,0
	Aqua dest.	699,0
entfällt	[p-Oxybenzoesäuremethylester p-Oxybenzoesäurepropylester]	0,6 0,4
im Rahmen dieser Arbeit		

Zusammensetzung der Unguentum emulsificans:

Alcohol cetylstearylic.emulsificans	30,0
Paraffinum subliquidum	35,0
Vaselinum album	35,0

Zusammensetzung des Alcohol cetylstearylic.emulsific.:

Alcohol cetylstearylicus	90,0
Natrium cetylstearylosulfuricum	10,0

Im ersten Falle verringert sich die Menge des für die Emulsionsbildung notwendigen Netzers durch Reaktion mit dem Wirkstoff soweit, dass die Emulsionsbildung gestört ist. Bei entsprechend hohen Konzentrationen des Antiseptikums wird die Emulsion als Salbe unbrauchbar infolge Verflüssigung und bricht im Bereich äquivalenter Konzentrationen. Diese lassen sich rechnerisch ermitteln (siehe Seite 22).

Die in der Salbentherapie gebräuchlichen Konzentrationen der Arzneistoffe sind häufig geringer. Hierbei wird der mit 0,9% in der Unguentum emulsificans aquosum enthaltene Netzer nur teilweise durch Bildung von Neutralsalzen dem Emulgatorkomplex entzogen. Solche Emulsionen bleiben stabil und sind vom pharmazeutisch-technologischen Standpunkt nicht zu beanstanden (siehe Übersichtstabellen 1, 2 und 3, Seite 18-20). Ihr arzneilicher Wert ist jedoch fraglich und kann nur durch bakteriologische Untersuchung ermittelt werden.

II. Wirksamkeit kationenaktiver Antiseptika in Unguentum emulsificans aquosum

1) Die Beeinflussung der antiseptischen Wirksamkeit

Seit Einführung der Invertseifen als Desinfektionsmittel ist der ungünstige Einfluss von anionenaktivem fettsaurem Alkali auf die Wirksamkeit kationenaktiver quartärer Ammoniumverbindungen als sogenannter Seifenfehler bekannt. Darüber hinaus sind in den letzten Jahren zahlreiche, dem Prinzip nach gleiche, Antagonismen zwischen kationenaktiven Antiseptika und anionenaktiven Salbenhilfsstoffen beschrieben worden (24,49,52,70).

Diese an Einzelbeispielen gewonnenen Ergebnisse führten zu der häufig zitierten und auch in modernen Lehrbüchern (16, 17) niedergelegten Meinung, dass die Kombination sol-

cher Antagonisten praktisch Wirkungsauslöschung bedingt.

Gelegentliche andere Beobachtungen und zuweilen geübte Praxis stehen hierzu nicht in Einklang (6,24,29,36,67).

Unsere Untersuchungen mit kationenaktiven Antiseptika verschiedener chemischer Struktur lassen die Schlussfolgerung zu:

Chemische Reaktion zwischen kationenaktiven Antiseptika und Natrium cetylstearylosulfuricum (anionenaktiver Hilfsstoff der Unguentum emulsificans aquosum, Nachtrag 1958 zum DAB 6) hat häufig keine Aufhebung, sondern nur Verminderung der Wirksamkeit zur Folge.

Ihr Ausmaß ist abhängig vom jeweils verwendeten kationenaktiven Antiseptikum. Es erstreckt sich von einer nur geringfügigen Beeinträchtigung bis zum völligen Wirkungsverlust.

In schematischer Aufgliederung unserer an 11 kationenaktiven Arzneistoffen gewonnenen Untersuchungsergebnisse lässt sich im einzelnen folgendes erkennen:

a) Geringfügige Verminderung der Wirksamkeit

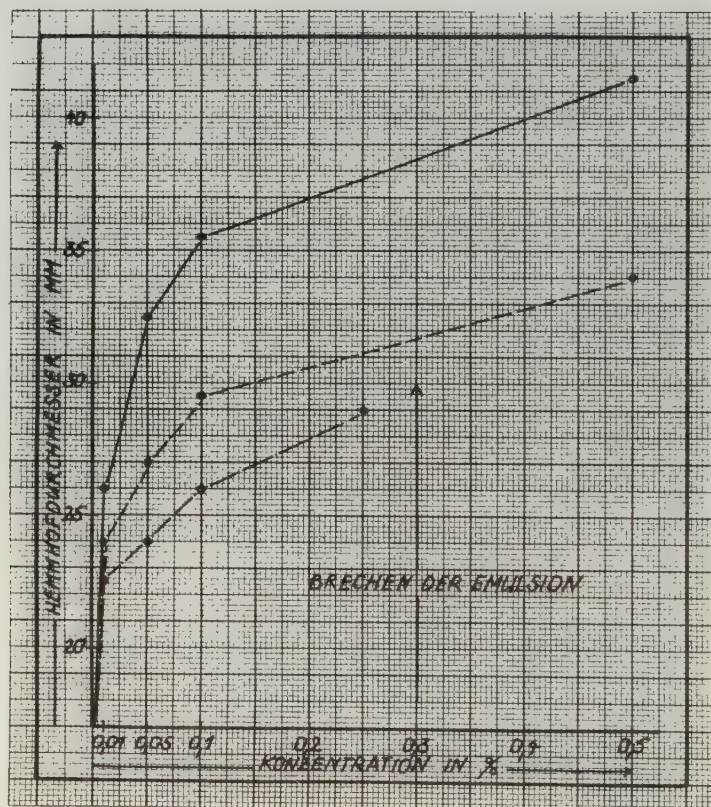


Abbildung 1

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die anti-septische Wirksamkeit von 8-Oxychinolinsulfat

- | | |
|---|-------------|
| 1) Wässrige Lösung
des Arzneistoffes | o ——— o |
| 2) Lösung des Arzneistoffes
in Netzerlösung 0,9% | o - - - - o |
| 3) Arzneistoff in Unguentum
emulsificans aquosum | o - . - . o |

Ebenso wie 8-Oxychinolinsulfat (siehe Abb.1) werden Trypflavin und Neomycin B-Sulfat geringfügig in ihrer Wirksamkeit beeinträchtigt, Phenylquecksilberazetat erleidet sogar praktisch keinen Wirkungsverlust (siehe Seite 26-32). Isoliertes Neutralsalzgemisch ("Komplex") ist in Salben- und Grundlagen gut wirksam (siehe Abb.2). ⁺

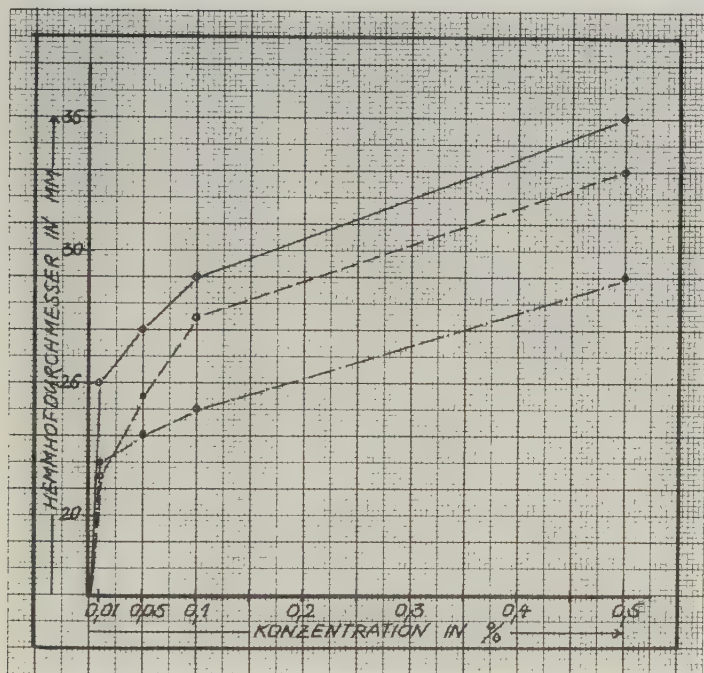


Abbildung 2

Untersuchung des isolierten 8-Oxychinolinkomplexes auf antiseptische Wirksamkeit in Tylose-Gel- und Unguentum emulsificans aquosum

- 1) 8-Oxychinolinsulfat o ——— o
in Tylose-Gel
- 2) 8-Oxychinolin-Komplex o ----- o
in Tylose-Gel
- 3) 8-Oxychinolin-Komplex o -.-.- o
in Unguentum emulsif.aquos.

⁺) Die Konzentrationen der Komplex-Zubereitungen sind auf den 8-Oxychinolin-Gehalt des 8-Oxychinolinsulfats berechnet.

b) Starke Beeinträchtigung der Wirksamkeit

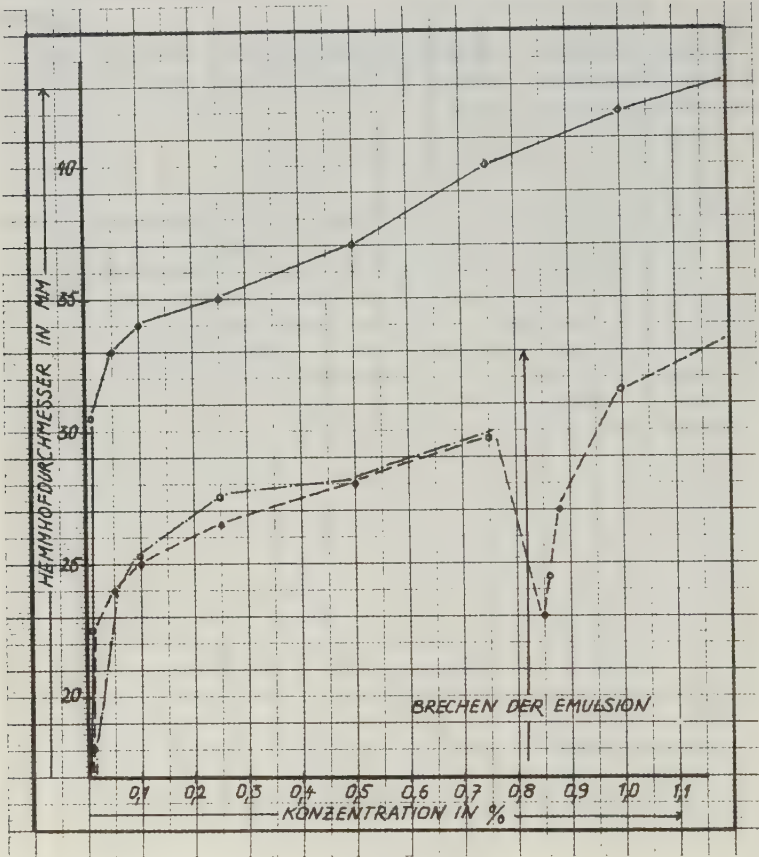


Abbildung 3

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die anti-septische Wirksamkeit von β -Phenoxyäthyl-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid (Bradosol®)

- | | |
|--|-------------|
| 1) Wässrige Lösung des Arzneistoffes | ○ ——— ○ |
| 2) Lösung des Arzneistoffes in Netzerlösung 0,9% | ○ - - - - ○ |
| 3) Arzneistoff in Unguentum emulsificans aquosum | ○ - . - . ○ |

Zu diesem Auswirkungstyp zählen alle zur Untersuchung herangezogenen Invertseifen. Ähnlich wie β -Phenoxy-äthyl-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid (Bradosol[®]) (siehe Abb.3) verhalten sich Dodecyl-triphenyl-phosphoniumbromid (Myxal[®]), Dodecyl-dimethyl-3,4-dichlorbenzyl-ammoniumchlorid (Riseptin[®]) und Dimethylbenzyl-dodecyl-ammoniumchlorid (Zephirol[®]): Bei Einarbeitung in Unguentum emulsificans aquosum erleiden sie eine beträchtliche Verminderung, jedoch keinen völligen Verlust der antiseptischen Wirkung (siehe Seite 32-37).

Auffallend ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass die Invertseifen Myxal[®] (siehe Seite 34) und Riseptin[®] (siehe Seite 36) ähnlich wie Neomycin B-Sulfat (siehe Seite 31) und Trypaflavin[®] (siehe Seite 29) bei Inkorporierung in die Salbengrundlage eine günstigere antibakterielle Wirkung entfalten als bei Reaktion mit der reinen Netzerlösung 0,9%. Ein Ansatzpunkt für die Aufklärung dieser Erscheinung liegt in den besonderen Gegebenheiten des Emulgator-Komplexes.

c) Verlust der Wirksamkeit

Das Verhalten dieser Gruppe ist am Beispiel des Rivanols veranschaulicht (siehe Abb.4):

Nach Inkorporierung von 2-Äthoxy-6,9-diaminoacridinlaktat (Rivanol[®]) und Imidotetramethyl-di-p-aminodiphenylmethan (Pyoktaninum aureum, Auramin O) in Unguentum emulsificans aquosum verlieren diese Antiseptika ihre Wirksamkeit. In bestimmten Konzentrationsbereichen trifft dies auch für Dodecyl-di(aminoäthyl)-glycin (Tego 103 S[®]) zu (siehe Seite 37-40).

In der Netzerlösung 0,9% hebt Natrium cetylstearylsulfuricum, solange es im Überschuss vorhanden ist, die Wirkung der Antiseptika auf. Gleichzeitig wird die schwache antibakterielle Wirkung des Netzers (siehe Abb.4, Hemmhof der Netzerlösung 0,9%) vermindert, um bei äquivalenten Konzentrationen zu erlöschen. Erst nach

einer Erhöhung der Konzentration des Antiseptikums über den Äquivalenzpunkt hinaus tritt antiseptische Wirkung in Erscheinung.

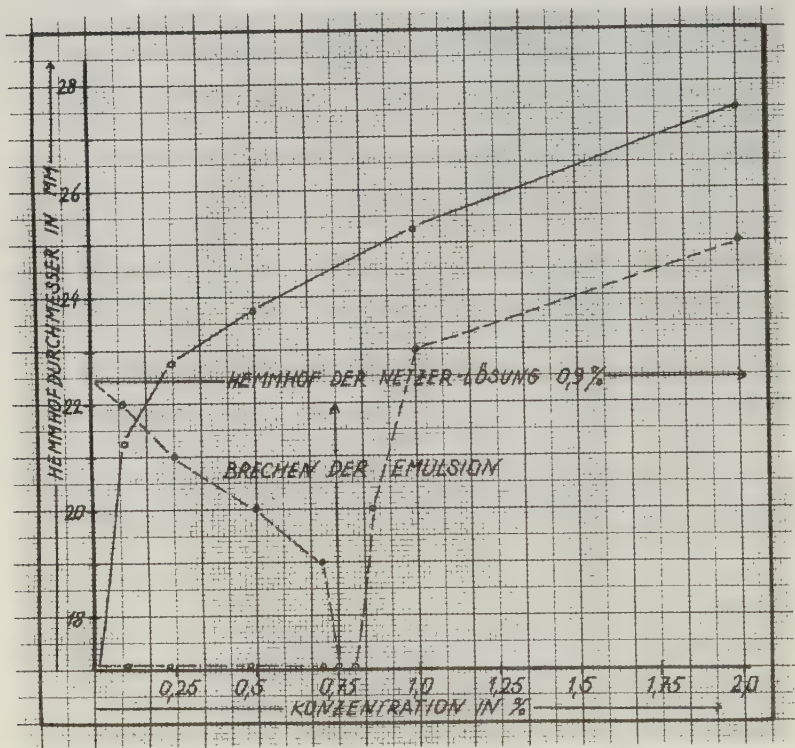


Abbildung 4

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von 2-Äthoxy-6,9-diaminoacridin-laktat (Rivanol®)

- 1) Wässrige Lösung des Arzneistoffes ○ ——— ○
- 2) Lösung des Arzneistoffes in Netzerlösung 0,9% ○ - - - - ○
- 3) Arzneistoff in Unguentum emulsificans aquosum ○ - . - . ○

Im Gegensatz zum isolierten Neutralsalz-Komplex des 8-Oxychinolins und des Trypaflavins zeigt derjenige des Rivanols weder in Tylose-Gel noch in Unguentum emulsificans aquosum antiseptische Eigenschaft (siehe Tab.1, Seite 11).

2) Ursachen der unterschiedlichen Beeinflussung

a) Die Löslichkeit der ausgefällten Neutralsalzkomplexe

Für die Wirksamkeit eines Antiseptikums ist eine, wenn auch nur geringe, Wasserlöslichkeit von Bedeutung. Vergleicht man die isolierten Neutralsalzkomplexe des Rivanols, 8-Oxychinolins und Trypaflavins in Bezug auf ihre Löslichkeit, so ergibt sich folgendes Bild:

Tabelle I

Die Wasserlöslichkeit isolierter Neutralsalzkomplexe im Vergleich zur antiseptischen Wirksamkeit ihrer gesättigten wässrigen Lösungen

Arzneistoff	Rivanol ®	8-Oxychinolinsulfat	Trypaflavin ®
Wasserlöslichkeit in mg %	0	6,5	17,0
Hemmhofdurchmesser in mm	0	21,0	23,0

Die Beeinträchtigung der Wirkung eines kationenaktiven Antiseptikums durch den anionenaktiven Netzer ist abhängig von der Löslichkeit des gebildeten Neutralsalzkomplexes in Wasser.

Die beobachtete Wirksamkeit gelöster Neutralsalzkomplexe lässt sich mit der Annahme erklären, dass infolge Zerfall des Neutralsalzkomplexes eine genügend hohe Konzentration an wirksamen Kationen vorhanden ist.

Wir stützen diese Ansicht auf Ergebnisse, welche aus einer Untersuchung des "Eiweissfehlers" der Invertseifen resultierten. In Blut und Serum enthaltenes Eiweiss bildet mit Invertseifen schwerlösliche Komplexe, wobei die Desinfektionswirkung ungünstig beeinflusst wird. Nach E.GOTTSCHE (30) besitzt ein solcher isolierter und gereinigter Zephirol-Eiweiss-Komplex trotzdem bakterizide Wirksamkeit. Diese beruht auf der Abspaltung von Antiseptika-Kationen aus dem Komplex.

b) Die antiseptische Wirkung lösungsvermittelter Neutralsalz-Komplexe

Hoher Überschuss von anionenaktivem Netzer führt zu Löslichkeitsvermittlung der primär gefällten Neutralsalz-Komplexe. Solche Löslichkeitsvermittlung bleibt jedoch ohne Einfluss auf die antiseptische Wirksamkeit.

Anders verhält sich der Neutralsalz-Komplex bei Löslichkeitsvermittlung durch nichtionogene Lösungsvermittler. Der antiseptisch unwirksame Neutralsalz-Komplex des Rivanols zeigt nach Löslichkeitsvermittlung mit 10% Tween 20 ⁺) in unvermindertem Ausmaß die antiseptische Wirkung des Arzneistoffes (siehe Abb.5). Tween 20 besitzt selbst keine antibakterielle Wirksamkeit.

Wir erklären diese Beobachtung in Anlehnung an C.D.MOORE und R.B.HARDWICK (50) mit einer konkurrierenden Reaktion des nichtionogenen Netzers:

Tween 20 besitzt infolge seiner Polyoxyäthylen-Komponente die Fähigkeit, mit Wasser eine kationenaktive Polyoxonium-Verbindung einzugehen (73). Die Möglichkeit einer Reaktion mit dem anionenaktiven Netzer ist daher in Betracht zu ziehen.

Eine experimentelle Klärung dieser Zusammenhänge erscheint uns erstrebenswert und soll im Zusammenhang mit Untersuchungen an nichtionogenen Lösungsvermittlern erfolgen.

⁺) Tween 20 = Polyoxyäthylen-sorbitan-monolaurat [®]

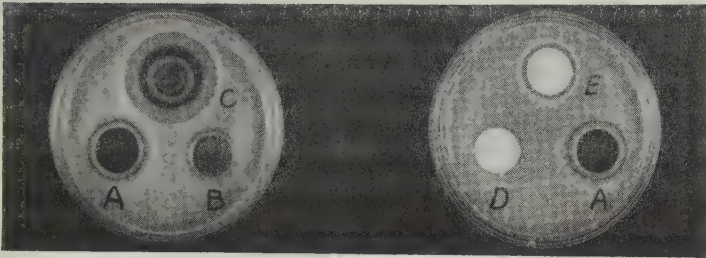


Abbildung 5

Der Einfluss von Tween 20 auf die antiseptische
Wirksamkeit von 0,5 % Rivanol in Netzerlösung
0,9% und in Unguentum emulsificans aquosum

- A) Arzneistoff in
wässriger Lösung
- B) Arzneistoff in
Netzerlösung 0,9%
- C) Arzneistoff in
Netzerlösung 0,9% + 10% Tween 20
- D) Arzneistoff in
Unguentum emulsific.aquos.
- E) Arzneistoff in
Unguentum emulsific.aquos. + 10% Tween 20

III. Therapie mit kationenaktiven Antiseptika in abwaschbaren Salben

Die gegenwärtig vertretene und vielzitierte Ansicht geht dahin, dass die Inkorporierung eines kationenaktiven Antiseptikums in eine anionenaktive Salbengrundlage den Verlust der antiseptischen Wirkung bedingt (16, 17, 50).

H.v.CZETSCH-LINDENWALD und F.SCHMIDT-LA BAUME (17) fassen diese Anschauung folgendermassen zusammen:

"Beachtet muss werden, dass die kationenaktiven Desinfizienten durch Beigabe von anionenaktiven (Anmerk.: gemeint ist der Netzer) unwirksam werden. Das Rezept ...

Cetyltrimethylammoniumbromid	1,0
Lanettewachs SX ⁺)	10,0
Paraffin flüssig	8,0
Paraffin fest	15,0
Wasser	ad 100,0

... ist uns daher völlig unverständlich."

Die zitierte Vorschrift stellt aber keineswegs einen Einzelfall dar. Im "STADA"-Verzeichnis (66) findet sich eine Unguentum contra combust. "StADA", in welcher 0,1% Trypaflavin in Lanette-Salbe eingearbeitet ist:

Trypaflavin	0,05
Stadacain	0,2
Acidum tannic.	10,0
Unguentum Lanette ad	50,0 ⁺⁺⁾

1) Die Wirksamkeit der Antiseptika in Unguentum emulsificans aquosum und in indifferenten Salbengrundlagen

Wie dargelegt wurde, zeigt sich in vielen Fällen bei Einarbeitung kationenaktiver Antiseptika in Unguentum emulsificans aquosum antiseptische Wirksamkeit.

Die Anwendung des Trypaflavins in Ungt. contra combust. "Stada" ist sinnvoll (siehe Abb. 9, Seite 29). Diese spezielle Aussage lässt sich jedoch nicht verallgemeinern.

⁺) Lanette SX: ^(R) Dem Emulsifying Wax B.P.1958 entsprechend
Natrium-laurylsulfat 10,0
Cetostearylalkohol 90,0

⁺⁺⁾ Ungt.Lanette = Unguentum emulsificans aquosum

Das Ausmaß der graduellen Unterschiede der antiseptischen Wirksamkeit kationenaktiver Arzneistoffe in Unguentum emulsificans aquosum einerseits und in indifferenten Grundlagen andererseits (Emulgatorkomplex-Salbe mit nicht-ionogenem Netzer sowie Methylzellulose-Gel) ⁺) ist aus den Übersichtstabellen 1, 2 und 3 ersichtlich (siehe Seite 18-20).

Dabei wirken kationenaktive Antiseptika, bei denen Neutralsalzbildung die Grösse der Hemmzonen nur geringfügig beeinflusst, aus den drei Grundlagen fast gleich gut (Übersichtstabelle 1).

Im Falle der Invertseifen ist Unguentum emulsificans den indifferenten Salbengrundlagen mit gewissen Abstufungen deutlich unterlegen (Übersichtstabelle 2).

Aus Übersichtstabelle 3 geht hervor, dass bei Tego 103 S, Auramin O und Rivanol die Verwendung von Unguentum emulsificans aquosum einen ausgesprochenen Kunstfehler darstellt. Antiseptische Wirksamkeit vermitteln hier nur die indifferenten Salben. Für diese Gruppe trifft die oben zitierte Auffassung in vollem Umfang zu.

Ganz allgemein ist anzunehmen, dass auch die arzneiliche Wirksamkeit anderer kationenaktiver Stoffe, z.B. der Lokalanaesthetika, durch Unguentum emulsificans aquosum ähnlich beeinflusst wird.

⁺) Emulgatorkomplex-Salbe mit nichtionogenem Netzer:

Polyoxyäthylen-sorbitan-monostearat (Tween 60)	5,0
Alcohol cetylicus	10,0
Vaselinum album	30,0
Aqua dest.	ad 100,0

Methylzellulose-Gel:

Tylose SL 600	5,0
Aqua dest.	ad 100,0

2) Konsistenz und Stabilität der Zubereitungen

Die besprochenen Salbenzubereitungen der Übersichtstabellen 1, 2 und 3 sind, bis auf wenige Ausnahmen, vom pharmazeutisch-technologischen Standpunkt aus als gut zu bezeichnen. Nach einer Lagerzeit von einem Monat ergaben sich in Konsistenz und Wirksamkeit keine Veränderungen [†]).

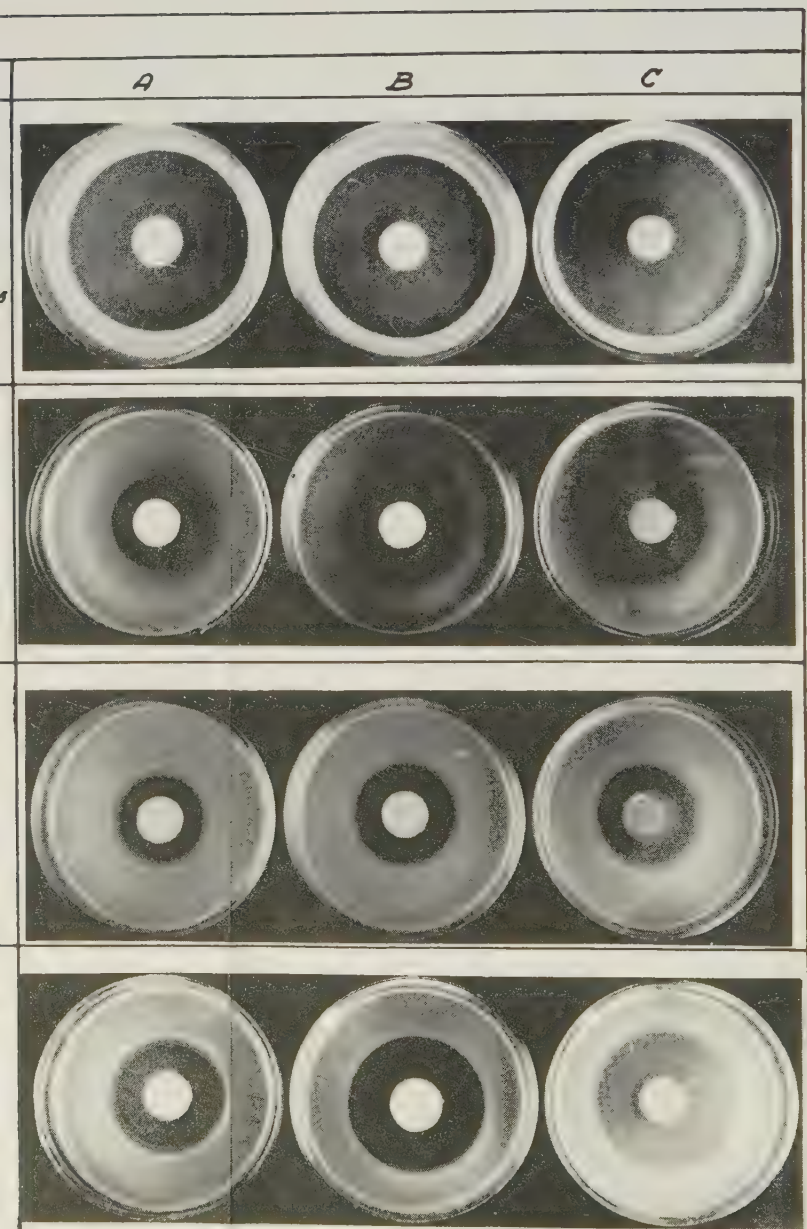
Bei den Zubereitungen mit Unguentum emulsificans aquosum deutet sich die Verminderung des Netzers dadurch an, dass in verschiedenen Fällen die Geschmeidigkeit der Salben, verglichen mit den entsprechenden Tween-Salben, eine gewisse Einbuße erleidet.

Erhöht man die Konzentration des kationenaktiven Wirkstoffes so weit, dass der zur Emulsionsbildung notwendige Netzer durch Neutralsalzbildung weitgehend gebunden wird, so tritt diese Reaktion augenfällig in Erscheinung: Die Salben sind stark griesselig und neigen zur Verflüssigung. Letztere Zubereitungen sind, auch bei bakteriologischer Wirksamkeit, unbrauchbar.

[†]) Lagerung bei Zimmertemperatur, dicht verschlossen.

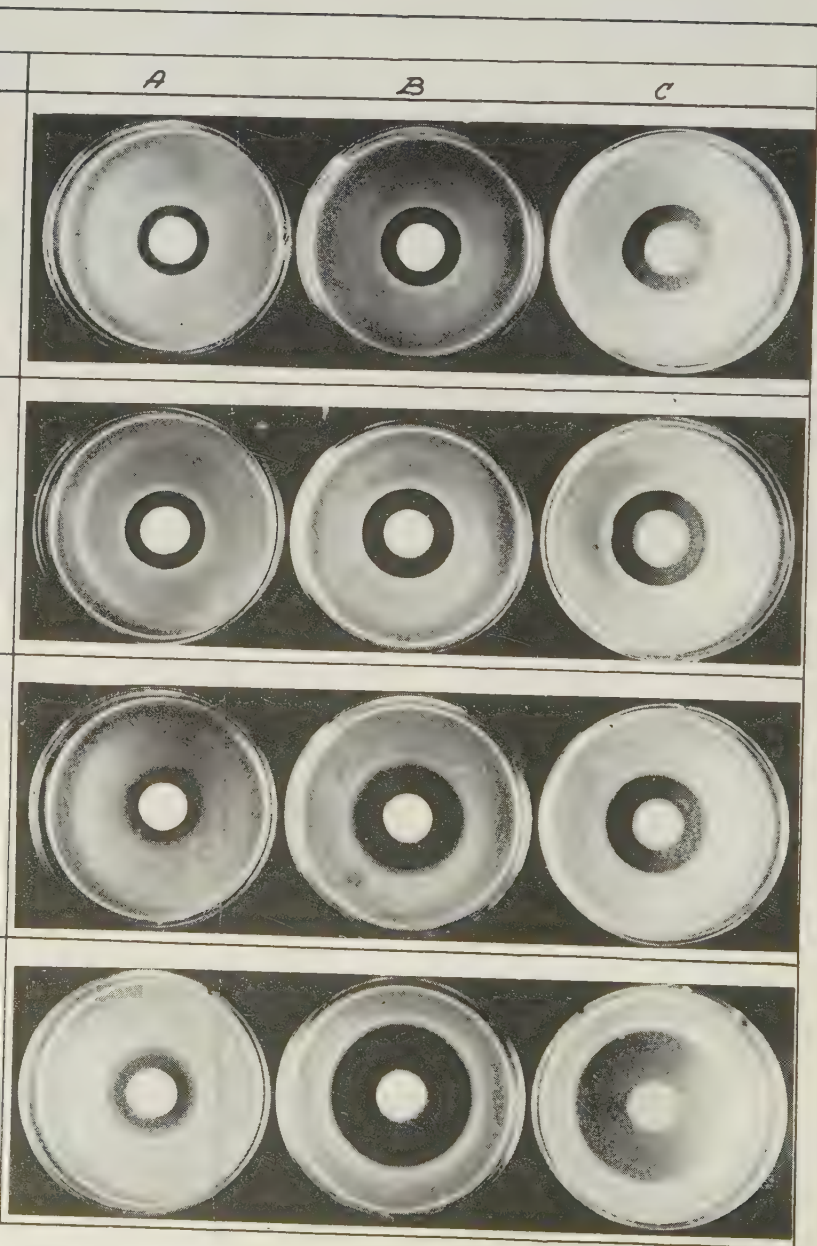
Arzneistoff	Salbe			
	I	II	III	
Phenylquecksilber-Azetat $\left[\text{C}_6\text{H}_5\text{-Hg} \right]^+ \text{CH}_3\text{COO}^-$	0,015%	++ ++ ++	A B C	
8-Oxychinolin-Sulfat $\left[\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2\text{O} \right]^+ \left[\text{SO}_4 \right]^{2-} \left[\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2\text{O} \right]^+$	0,25%	++ ++ ++	A B C	
Trypaflavin[®] $\left[\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_4 \right]^+ \text{Cl}^-$ 3,6 Diamino - 10-methylacridiniumchlorid $\left[\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_4 \right]^+ \text{Cl}^-$ 3,6 Diaminoacridin - monohydrochlorid	0,5%	+ ++ ++	A B C	
Neomycin B-Sulfat $\left[\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{13} \right]^{4+} \left(\text{SO}_4 \right)_2^{2-}$	0,2%	++ ++ 0	A B C	

ben



Arzneistoff	Salbe			A
	I	I	II	
Bradosol[®] $\left[\text{C}_6\text{H}_5\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3 \right]^+ \text{Br}^-$ <i>β-Phenoxyäthyl-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid</i>	0,25%	++	A	
		++	B	
		++	C	
Myxal[®] $\left[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{PCH}_2(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3 \right]^+ \text{Br}^-$ <i>Dodecyl-triphenyl-phosphonium bromid</i>	0,25%	++	A	
		++	B	
		++	C	
Riseptin[®] $\left[\text{Cl}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{Cl})_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3 \right]^+ \text{Cl}^-$ <i>Dodecyl-dimethyl-3,4-dichlorbenzyl-ammoniumchlorid</i>	0,25%	++	A	8
		++	B	
		++	C	
Zephirol[®] $\left[\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3 \right]^+ \text{Cl}^-$ <i>Dimethyl-benzyl-dodecyl-ammonium-chlorid</i> (Hauptbestandteil des Präparates)	0,25%	+	A	
		++	B	
		++	C	

elben

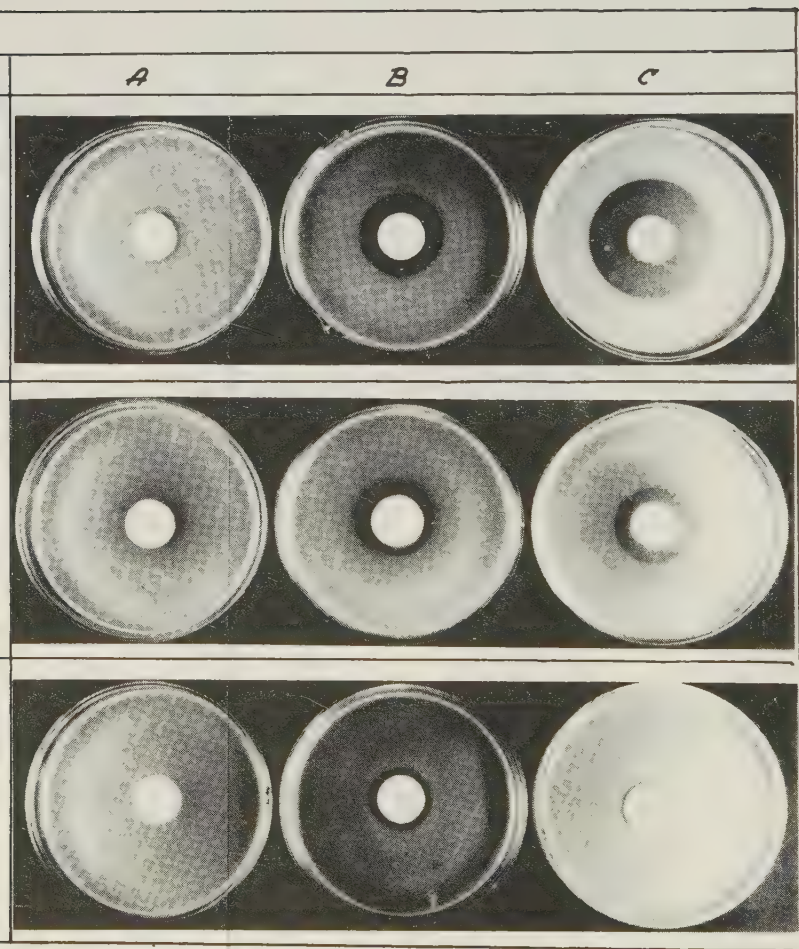


Übersichts-Tabelle 3

Kationenakt

Arzneistoff	Salbe			A
	I	II	III	
Tego 103 S[®] $\left[\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{10} - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2 \right]^+ \text{Cl}^-$ HOOCC-CH₂ <i>Dodecyl-di(aminoethyl)-glycin-hydrochlorid</i> (Hauptbestandteil des Präparats)	0,25%	++ ++ ++	A B C	1
Auramin O $\left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \text{N}=\text{C} \\ \text{H} \end{array} \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \\ \text{C}_6\text{H}_4 \end{array} \begin{array}{c} \text{N} \\ \text{N} \end{array} \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \right]^+ \text{Cl}^- + \text{H}_2\text{O}$ <i>Imidodetramethyl-di-p-aminodiphenylmethan</i>	0,5%	++ ++ ++	A B C	0
Rivanol[®] $\left[\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \text{H}_2\text{N} \end{array} \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_3 \\ \text{C}_6\text{H}_3 \end{array} \begin{array}{c} \text{N} \\ \text{N} \end{array} \begin{array}{c} \text{OC}_2\text{H}_5 \\ \text{H} \end{array} \right]^+ \text{CH}_3\text{-CHOH-COO}^-$ <i>2-Ethoxy-6, 9-diaminoacridinlaktat</i>	0,5%	+ ++ ++	A B C	0

ben



C. Experimenteller Teil

I. Untersuchung der chemischen Reaktions- verhältnisse

Die Identifizierung der gefällten Komplexe als Neutral-salz-Gemische erfolgte durch gravimetrische Bestimmung des Gehalts an Sulfat-Schwefel bzw. durch ein für unsere Zwecke erarbeitetes maßanalytisches Verfahren.

1) Gravimetrische Bestimmung des Schwefel-Gehaltes

Nach Isolierung, mehrfacher Reinigung und Trocknung erfolgt die Bestimmung des Schwefels mittels Oxydationsschmelze und Fällung als Bariumsulfat (64).

Tabelle II

Der Schwefel-Gehalt gefällter Komplexe

Arzneistoff	Schwefelgehalt des Komplexes in %	
	errechnet	gefunden ⁺)
Rivanol ®	5,24	5,15
8-Oxychino- lin-sulfat	6,64	6,12

⁺) Natrium cetylstearylosulfuricum enthält freie Fettalkohole (bis zu 11%): der gefundene Schwefelgehalt (8,69%) liegt daher niedriger, als der für die Reinsubstanz er-rechenbare (8,92%). Hieraus erklären sich die bei den gravimetrischen Bestimmungen auftretenden Differenzen der Werte.

2) Maßanalytische Bestimmung der kationenaktiven Substanz

Ein eleganteres Verfahren zur Untersuchung der Reaktionsverhältnisse ist die titrimetrische Bestimmung der zur Umsetzung mit Natrium cetylstearylosulfuricum erforderlichen Menge kationenaktiver Arzneistoffe.

Der Nachweis stöchiometrischer Umsetzungsverhältnisse lässt sich durch Titration der kationenaktiven Antiseptika mit einer Lösung von Natrium cetylstearylosulfuricum erbringen. Der Endpunkt ist durch charakteristische Ausflockung gekennzeichnet (siehe Abb.6, Seite 24) [†]).

Tabelle III
Gehalt der gefällten Komplexe an
kationenaktiver Substanz

Arzneistoff	Mol. Gew.	0,9g Natriumcetyl- stearylosulfuricum äquivalente Mengen in g errechnet gefunden	
Rivanol [®]	343,2	0,782	0,787
Trypaflavin [®]	256,2	0,554	0,569
Bradosol [®]	414,4	0,897	0,891
Myxal [®]	511,5	1,107	1,135
Riseptin [®] ⁺⁺)	408,8	0,884	0,887

Tego 103 S und Neomycin B-Sulfat ergeben abweichende Werte. Diese lassen sich durch die uneinheitliche Zusammensetzung der Untersuchungssubstanzen erklären. Phenylquecksilberazetat wird durch Natrium cetylstearylosulfuricum nicht ausgefällt, daher ist eine titrimetrische Bestimmung auf dieser Grundlage nicht durchführbar.

[†]) Nach Erarbeitung obigen Verfahrens wurden uns Titrationmethoden auf anderer Basis bekannt (34, 35).

⁺⁺) siehe Seite 29 und 35

II. Ein Titrationsverfahren zur quantitativen Bestimmung ionogener oberflächenaktiver Substanzen

Fügt man einer wässrigen Lösung von Natrium cetylstearylosulfuricum die Lösung eines kationenaktiven Antiseptikums zu, beispielsweise Riseptin[®], so erfolgt im Überschuss von Natrium cetylstearylosulfuricum zunächst Lösungsvermittlung der entstandenen Neutralsalz-Fällung (Reagensgläser 0,05% und 0,1%). Mit zunehmender Konzentration an Riseptin entsteht eine hochdisperse Suspension, welche durch die Aktivität des immer noch im Überschuss vorhandenen Netzers stabilisiert bleibt (Reagensgläser 0,25%, 0,5% und 0,75%). Vollständige Umsetzung des vorgelegten Natrium cetylstearylosulfuricum zeigt sich durch s p o n t a n e A u s f l o c k u n g des schwerlöslichen Reaktionsproduktes an (Reagensglas 0,887%).

Am Absinken der Höhe des Schüttelschaumes (Pfeil) erkennt man sehr deutlich die Verminderung des Gehalts an freiem Netzer.

Weitere Erhöhung der Konzentration des Riseptins bewirkt zunächst Suspendierung der Fällung (Reagensglas 1%), bei grossem Überschuss schliesslich Lösungsvermittlung (Reagensglas 5%).

Das Auftreten dieser charakteristischen Flockungs-Reaktion lässt sich ganz allgemein anwenden:

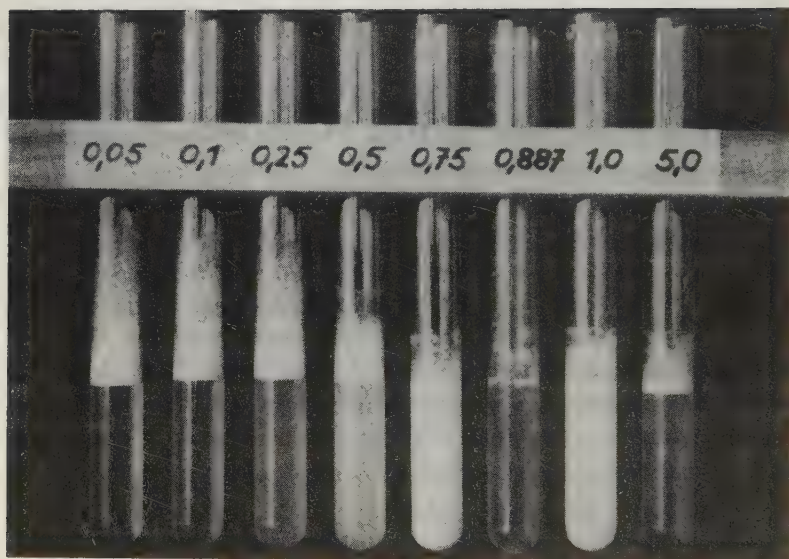


Abbildung 6

Umsetzung von Natrium cetylstearylosulfuricum
(wässrige Lösung 0,9%) mit Dodecyl-dimethyl
3,4-dichlorbenzyl-ammoniumchlorid (Riseptin[®])
(wässrige Lösung 1%) +)

- 1) Quantitative Bestimmung kationenaktiver Arzneistoffe
(siehe Tab.III, Seite 22)
- 2) Gehaltsbestimmung von Natrium cetylstearylosulfuricum

Der Vorteil dieses Verfahrens gegenüber der in den Nachtrag zum DAB 6 aufgenommenen gravimetrischen Bestimmungsmethode liegt in der Schnelligkeit der Durchführung. Die Arbeitszeit wird dabei von mehreren Stunden auf etwa 15 Minuten verkürzt. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse liegt bei weniger als $\pm 1\%$ Abweichung.

⁺) Die jeweilige Konzentration des Antiseptikums in % ist am Reagensglas vermerkt.

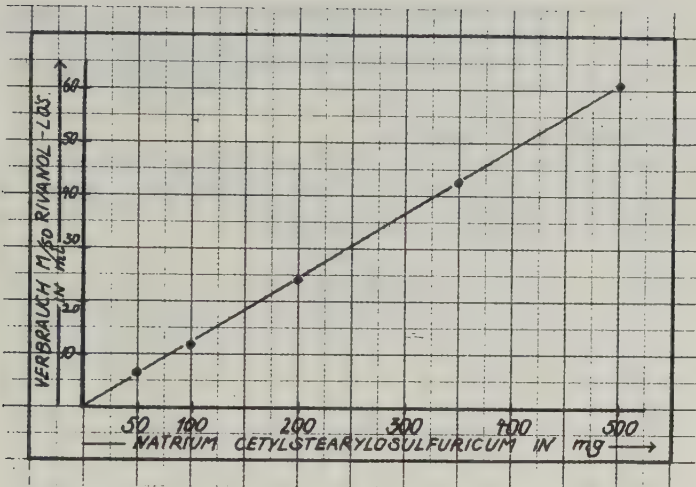


Abbildung 7

Bestimmung von Natrium cetylstearylosulfuricum mit Hilfe von M/50 Rivanol-Lösung ⁺)

Zur Methodik:

Etwa 0,2g Natrium cetylstearylosulfuricum ⁺⁺⁾ werden genau gewogen und in einem 250 ml Titrationskölbchen mit 100 ml Wasser auf dem Wasserbad gelöst. Nach Abkühlung auf 30 bis 40°C wird mit M/50 Rivanol-Lösung bis zum Flockungspunkt titriert. Gegen Ende der Titration ist kräftig umzuschütteln.

Unter Zugrundelegung eines mittleren Molekulargewichtes 358,5 für Natrium cetylstearylosulfuricum ergibt sich für das bei unseren Untersuchungen verwendete Präparat ein Gehalt von 86,2% an aktiver Substanz.

⁺) Titerstellung erfolgt mit n/10 Kaliumbichromatlösung (56) ¹

⁺⁺⁾ Lanette E [®]

III. Bakteriologische Untersuchungen mit Hilfe des Agar-Diffusionstestes

1) Phenylquecksilber-azetat

Die Beeinträchtigung der antiseptischen Wirkung ist sehr gering. Die verschiedenen Zubereitungsformen - wässrige Lösung, Netzerlösung und Salbe - zeigen nur geringfügige Unterschiede in der Grösse der Hemmhöfe.

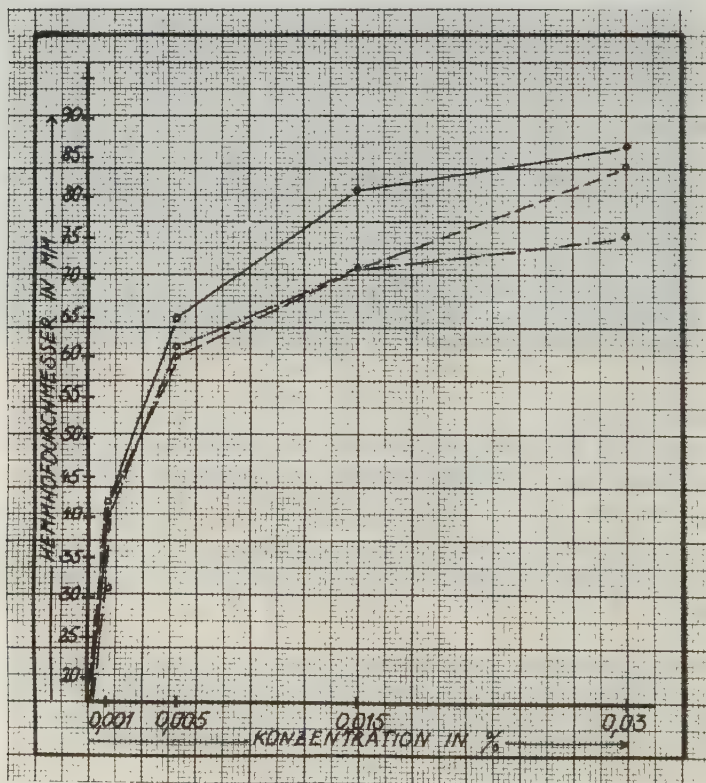


Abbildung 8

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von Phenylquecksilber-azetat

- | | |
|--|---------|
| 1) Wässrige Lösung des Arzneistoffes | o — o |
| 2) Lösung des Arzneistoffes in Netzerlösung 0,9% | o - - o |
| 3) Arzneistoff in Unguentum emulsificans aquosum | o -.- o |

Tabelle IV

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von Phenylquecksilber-azetat

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	wässrige Lösung	Netzer-Lösung 0,9%	Unguentum emulsific. aquosum
Phenylquecksilber-azetat	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,0005%	40,5	38,5	31
0,001 %	42	42	40,5
0,005 %	65	60	61
0,015 %	80,5	71	71
0,030 %	86,5	84	75,5

Das Antiseptikum ist in Wasser schwerlöslich (ca. 0,06% bei 20°C) und wird infolge seiner starken Wirksamkeit nur in sehr hohen Verdünnungen (1:1500 bis 1:50 000) angewendet. Ein Brechen der Emulsion kann dabei praktisch nicht eintreten. Die Isolierung eines Neutralsalz-Komplexes ist nicht möglich (siehe Seite 22).

2) 8-Oxychinolin-sulfat

Im Vergleich zu Phenylquecksilber-azetat ist die Beeinflussung der Wirksamkeit bei 8-Oxychinolin-sulfat zwar stärker ausgeprägt, jedoch ergeben auch hier bereits sehr niedere Konzentrationen des Wirkstoffes deutliche Hemmhöfe (siehe Abb.1, Seite 6).

Tabelle V

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von 8-Oxychinolin-sulfat

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	Wässrige Lösung	Netzer- Lösung 0,9%	Unguentum emulsific. aquosum
8-Oxychino- lin-sulfat	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,01%	26	24	22,5
0,05%	32,5	27	24
0,1 %	35,5	29,5	26
0,25%	-	-	29
0,5 %	41,5	34	-

Tabelle VI

Die Wirksamkeit des isolierten 8-Oxychinolin-Komplexes in Tylose-Gel und Unguentum emulsificans aquosum *)

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	Tylose-Gel mit 8-Oxy- chinolin- sulfat	Tylose-Gel mit 8-Oxy- chinolin- Komplex	Ung. emuls. aquosum mit 8-Oxychino- lin-Komplex
8-Oxychino- lin-sulfat	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,01%	25	21,5	22
0,05%	27	24,5	23
0,1 %	29	27,5	24
0,5 %	35	33	29

*) siehe Abb.2, Seite 7

) Trypaflavin [®]

Der Arzneistoff verhält sich ähnlich wie 8-Oxychinolinulfat. Auch hier gelangen aus Unguentum emulsificans aquo-um hinreichende Mengen aktiver Substanz zur Diffusion (siehe Seite 14).

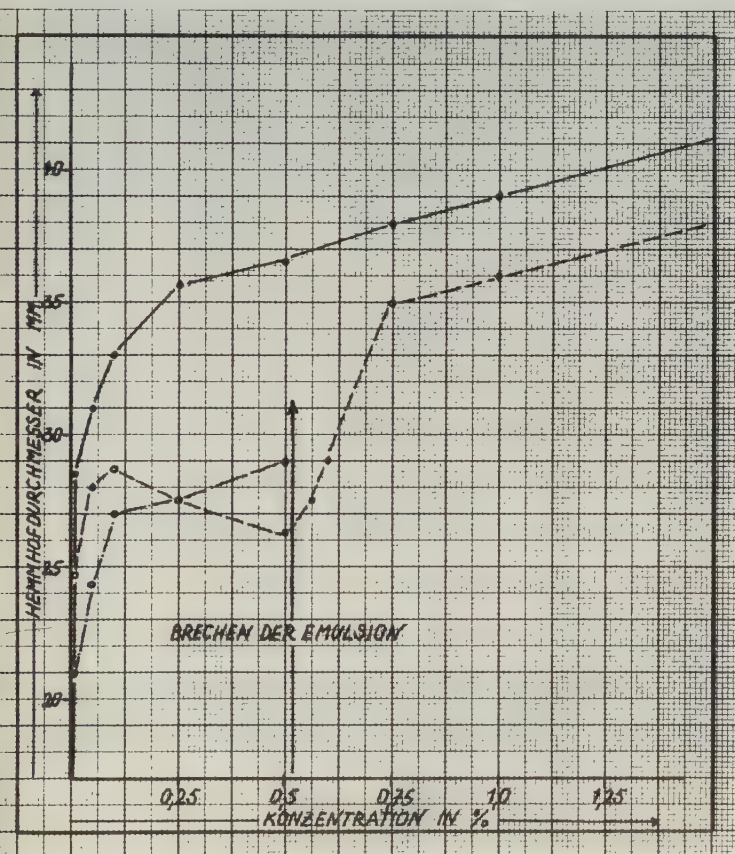


Abbildung 9

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die anti-septische Wirksamkeit von Trypaflavin [®] +)

- 1) Wässrige Lösung des Arzneistoffes o — o
- 2) Lösung des Arzneistoffes in Netzerlösung 0,9% o - - - o
- 3) Arzneistoff in Unguentum emulsificans aquosum o - . - o

) Gemisch von 75% 3,6 Diamino-10-methylacridiniumchlorid und 25% 3,6 Diamino-acridin-monohydrochlorid.

Tabelle VII

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von Trypaflavin®

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	wässrige Lösung	Netzer-Lösung 0,9%	Unguentum. emulsific. aquosum
Trypaflavin®	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,01%	28,5	24,75	21
0,05%	31	28	24,25
0,1 %	38	28,75	27
0,25%	35,75	27,5	27,5
0,5 %	36,25	26,25	29
0,563%	36,5	27,5	-
0,6 %	37,25	29	-
0,75%	38	35	-
1,0 %	39	36	-
2,0 %	42,75	39,5	-

4) Neomycin B-sulfat

An dem in die Untersuchungen einbezogenen Antibiotikum Neomycin B-sulfat ist eine Beeinträchtigung der antibakteriellen Wirksamkeit erkennbar. Ihr Ausmaß ist jedoch gering (siehe Seite 18, Übersichtstabelle 1).

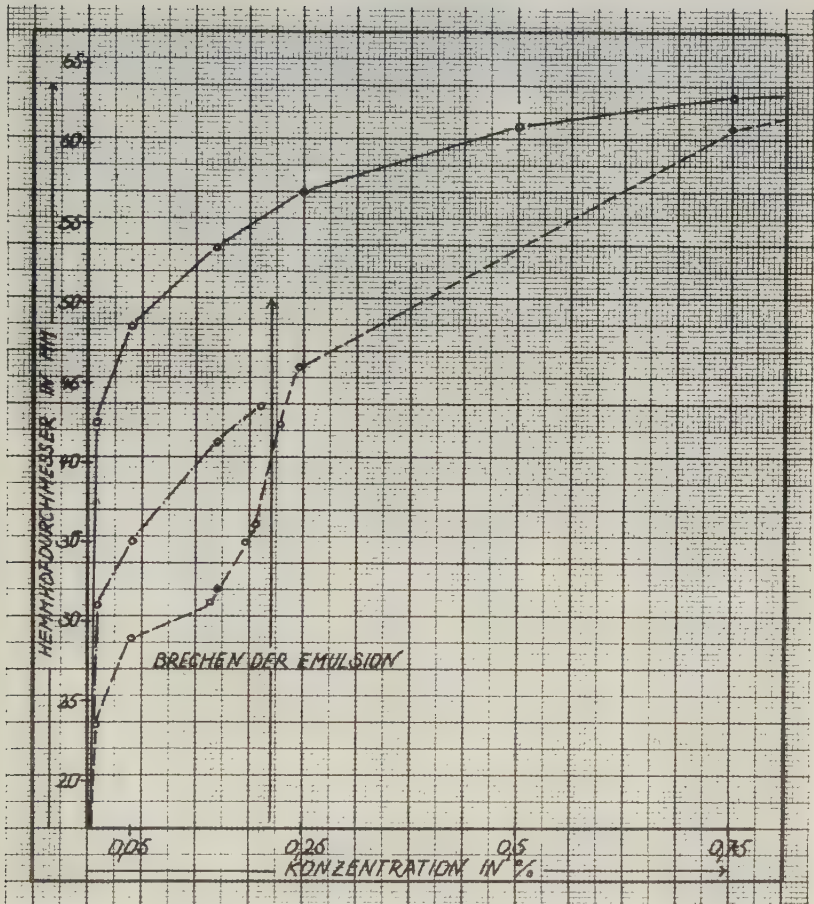


Abbildung 10

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die anti-bakterielle Wirksamkeit von Neomycin B-Sulfat ⁺)

- 1) Wässrige Lösung des Arzneistoffes o — o
- 2) Lösung des Arzneistoffes in Netzerlösung 0,9% o --- o
- 3) Arzneistoff in Unguentum emulsificans aquosum o -.- o

⁺) Gehalt: 753 mg Base/g

Tabelle VIII

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antibakterielle Wirksamkeit von Neomycin B-Sulfat

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	wässrige Lösung	Netzer-Lösung 0,9%	Unguentum emulsific. aquosum
Neomycin B-Sulfat	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,01 %	42,5	23,5	31
0,05 %	48,5	29	35
0,142%	-	31,5	-
0,15 %	53,5	32	41,25
0,18 %	-	35	-
0,191%	-	36	-
0,2 %	-	-	43,5
0,22 %	-	42,25	-
0,246%	-	46	-
0,25 %	57	-	-
0,5 %	61,25	-	-
0,75 %	63	61	-
1,0 %	64	63	-

5) β -Phenoxyäthyl-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid
(Bradosol [®])

Die Wirksamkeit des Antiseptikums wird durch Natrium cetylstearylosulfuricum deutlich reduziert. Wirkungsverlust tritt jedoch selbst bei geringen Wirkstoff-Konzentrationen nicht ein (siehe Abb.3, Seite 8).

Tabelle IX

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von β -Phenoxyäthyl-dimethyldodecyl-ammoniumbromid (Bradosol [®])

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	wässrige Lösung	Netzer- Lösung 0,9%	Unguentum emulsific. aquosum
Bradosol [®]	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,01%	30,5	22,5	18
0,05%	33	24	24
0,1 %	34	25	25,5
0,25%	35	26,5	27,5
0,5 %	37	28	28
0,75%	40	29,75	29,75
0,85%	-	23	-
0,86%	-	24,5	-
0,88%	-	27	-
1,0 %	42	31,5	-
2,0 %	49	40	-

6) Dodecyl-triphenyl-phosphoniumbromid (Myxal [®])

Das Antiseptikum wird durch die wässrige Lösung von Natrium cetylstearylosulfuricum stark gehemmt, in Unguentum emulsificans aquosum zeigt es dagegen bemerkenswerte Aktivität (siehe Seite 9).

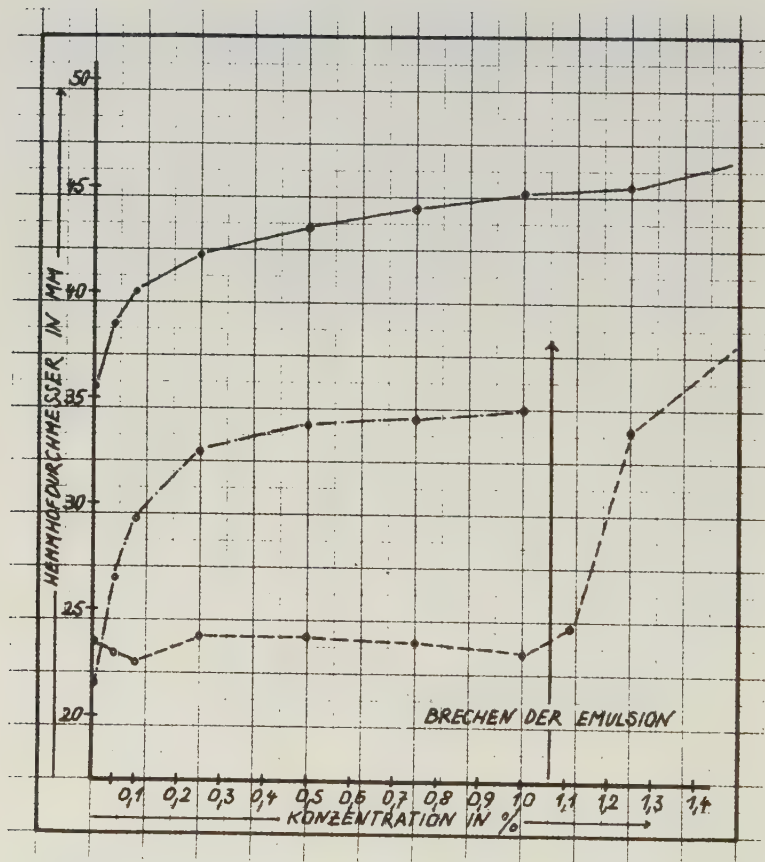


Abbildung 11

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die anti-septische Wirksamkeit von Dodecyl-triphenyl-phosphoniumbromid (Myxal ®)

- 1) Wässrige Lösung des Arzneistoffes o ——— o
 2) Lösung des Arzneistoffes in Netzerlösung 0,9% o - - - - - o
 3) Arzneistoff in Unguentum emulsificans aquosum o - . - . - o

Tabelle X

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von Dodecyl-triphenyl-phosphoniumbromid (Myxal [®])

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	wässrige Lösung	Netzer- Lösung 0,9%	Unguentum emulsific. aquosum
Myxal [®]	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,01%	35,5	23,5	21,5
0,05%	38,5	23	26,5
0,1 %	40	22,5	29,25
0,25%	41,75	23,75	32,5
0,5 %	43	23,75	33,75
0,75%	44	23,5	34
1,0 %	44,75	23	35
1,13%	-	24,25	-
1,25%	45	33,5	-
2,0 %	47,5	40,5	-

7) Dodecyl-dimethyl-3,4-dichlorbenzyl-ammoniumchlorid
(Riseptin [®]) ⁺)

Durch die wässrige Lösung von Natrium cetylstearylosulfuricum wird die antiseptische Wirkung aufgehoben. In Unguentum emulsificans aquosum bleibt sie jedoch erhalten (siehe Seite 9).

⁺) Riseptin [®] = 10%ige Lösung des Wirkstoffes

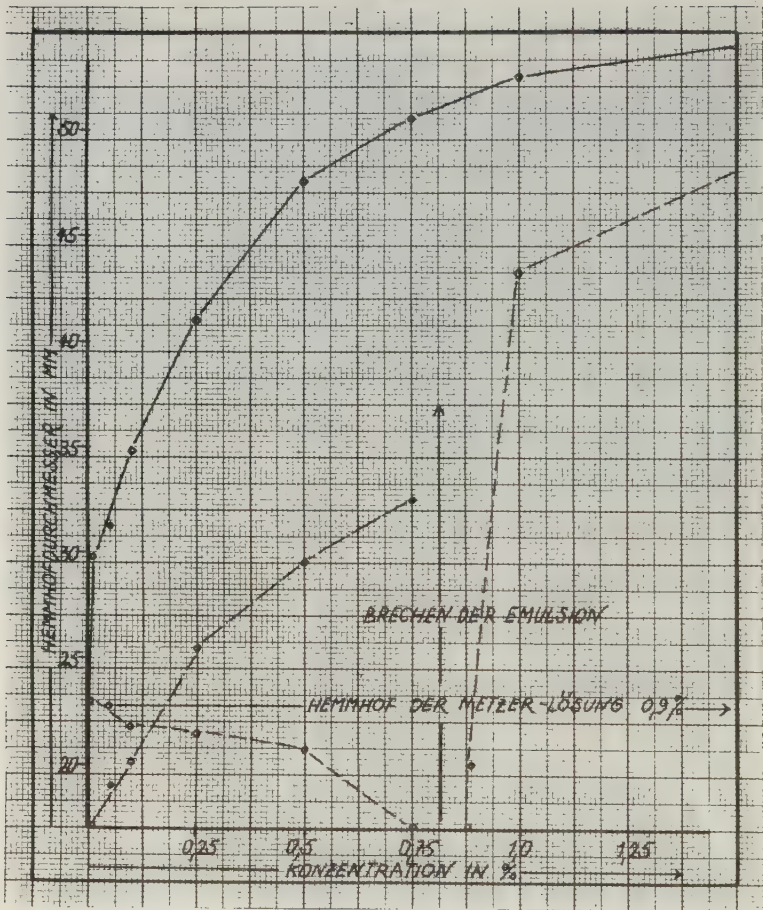


Abbildung 12

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die anti-septische Wirksamkeit von Dodecyl-dimethyl-3,4-dichlorbenzyl-ammoniumchlorid (Riseptin®)

- 1) Wässrige Lösung des Arzneistoffes o ——— o
- 2) Lösung des Arzneistoffes in Netzerlösung 0,9% o - - - - o
- 3) Arzneistoff in Unguentum emulsificans aquosum o - . - . o

Tabelle XI

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von Dodecyl-dimethyl-3,4-dichlorbenzyl-ammoniumchlorid (Riseptin®)

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	wässrige Lösung	Netzer-Lösung 0,9%	Unguentum emulsific. aquosum
Riseptin®	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,01 %	29,75	23	0
0,05 %	31,25	22,75	19
0,1 %	34,75	21,75	20
0,25 %	41	21,5	25,5
0,5 %	47,5	20,75	29,5
0,75 %	50,5	0	32,5
0,8 %	-	0	-
0,884%	-	0	-
0,887%	-	20	-
1,0 %	52,5	43,25	-
2,0 %	55,75	52,5	-

8) Dodecyl-di(aminoäthyl)glycin-hydrochlorid (Tego 103 S®)⁺

Die Wirkung des Antiseptikums ist in niederen Konzentrationen (bis zum molaren Verhältnis Arzneistoff/Netzer = 1:2) aufgehoben. Erhöhung der Konzentration lässt die antiseptische Wirkung in Erscheinung treten.

⁺) Tego 103 S® = 15%ige Lösung des Wirkstoffes

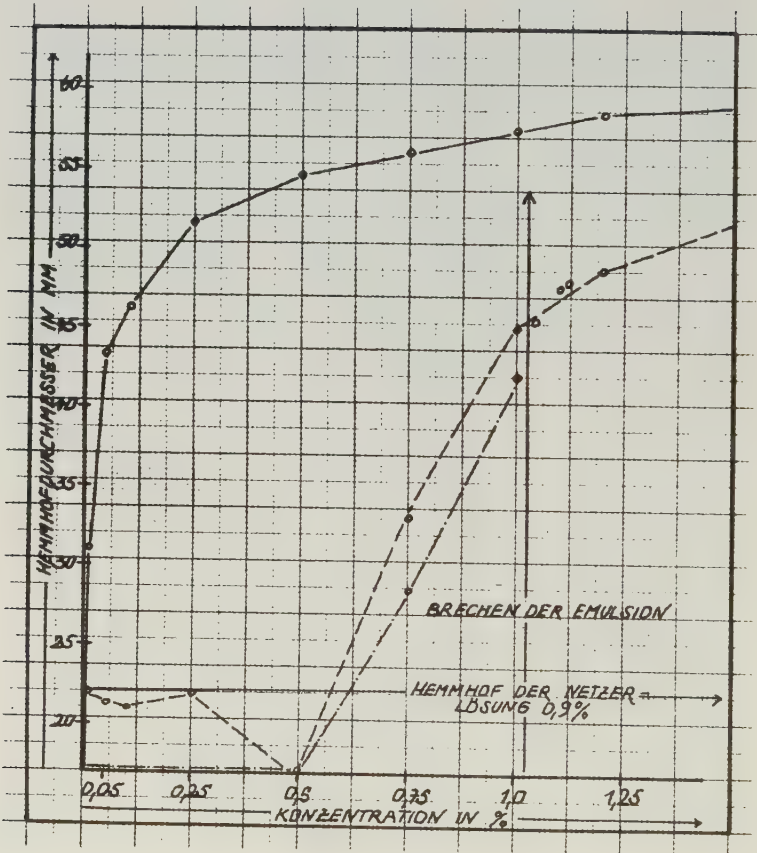


Abbildung 13

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die anti-septische Wirksamkeit von Dodecyl-d(aminoäthyl)-glycin-hydrochlorid (Tego 103 S®)

- 1) Wasserige Lösung des Arzneistoffes ○ — ○
- 2) Lösung des Arzneistoffes in Netzerlösung 0,9% ○ --- ○
- 3) Arzneistoff in Unguentum emulsificans ○ -.- ○

Tabelle XII

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die antiseptische Wirksamkeit von Dodecyl-di(aminoäthyl)-glycin-hydrochlorid (Tego 103 S[®])

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	wässrige Lösung	Netzer-Lösung 0,9%	Unguentum emulsific. aquosum
Tego 103 S [®]	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,01 %	31	22	0
0,05 %	43,25	21,25	0
0,1 %	46,35	21	0
0,25 %	51,75	22	0
0,5 %	54,75	0	0
0,75 %	56	33	28,4
1,0 %	57,5	45	42
1,04 %	-	45,5	-
1,10 %	-	47,5	-
1,125%	-	48	-
1,20 %	58,5	48,75	-
2,0 %	59,5	56,5	-

9) 2-Äthoxy-6,9-diaminoacridin-laktat (Rivanol®)

Im Falle des Rivanols zeigt sich, welches Ausmaß der Einfluss eines Salbenhilfsstoffes annehmen kann:
Der Arzneistoff verliert in Unguentum emulsificans aquosum jede Wirksamkeit (siehe Abb.4, Seite 10).

Tabelle XIII

Der Einfluss von Natrium cetylstearylosulfuricum und Unguentum emulsificans aquosum auf die anti-septische Wirksamkeit von 2-Äthoxy-6,9-diaminoacridin-laktat (Rivanol®)

Arzneistoff	Z u b e r e i t u n g		
	wässrige Lösung	Netzer- Lösung 0,9%	Unguentum emulsific. aquosum
Rivanol®	Hemmhofdurchmesser in mm		
0,10%	21,25	22	0
0,25%	22,75	21	0
0,50%	23,75	20	0
0,70%	25	19	0
0,75%	24,5	0	-
0,80%	24,75	0	-
0,86%	25	20	-
1,00%	25,25	23	-
2,00%	27,5	25	-

IV. Die Methodik bei der Untersuchung von Salben

1) Überprüfung der gebräuchlichsten Methoden auf ihre Eignung

Bei den vielfältigen Abweichungen in der Handhabung des Agar-Diffusionstestes (siehe Tab.XIX, Seite 55) ist eine vergleichende Untersuchung notwendig.

Dabei interessieren neben den arbeitstechnischen Vorzügen und Nachteilen besonders die Abweichungen der Resultate hinsichtlich Grösse und Ausbildung der Hemmhöfe sowie der Konstanz der Einzelwerte.

Tabelle XIV

Vergleichende Untersuchung der gebräuchlichsten Methoden in Bezug auf Abweichung der Resultate und Konstanz der Einzelwerte ^{†)}

Untersuchungsmethode	Hemmhofdurchmesser Mittelwerte in mm			Durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert in mm		
	Serie I	Serie II	Serie III	Serie I	Serie II	Serie III
Agar-Diffusion-Meth.	34,30	35,25	35,10	0,30	0,30	0,16
Agar-Diffusion-Meth.	31,75	32,05	31,75	0,25	0,56	0,30
Agar-Diffusion-Meth.	37,13	36,75	36,35	0,77	0,50	0,72
Agar-Diffusion-Meth.	33,10	34,65	33,00	0,52	0,69	0,60

^{†)} Die Mittelwerte resultieren aus je 10 Einzeluntersuchungen.
 Testsalbe: Phenylquecksilberazetat 0,005% in Eucerin c.
 Aqua aa

Auswertung der Tabelle XIV:

- a) Oberflächenaussaat führt bei gleicher Keimverdünnung und gleicher Aufbringungsart der Salbe zu grösseren Hemmhöfen.
- b) Homogene Tiefenbeimpfung ergibt die geringste durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert (0,16 bis 0,3 mm; bei Oberflächenaussaat dagegen 0,5 bis 0,77 mm).
- c) Einsenkung der Salbe in den Agar (Cup-Methode) bewirkt bei beiden Arten der Beimpfung die Ausbildung grösserer Hemmhöfe.

Für die Untersuchung antiseptischer Salben mittels einer Agar-Diffusions-Methode erscheint daher die "Cup"-Methode bei homogener Tiefenbeimpfung als am besten geeignet.

2) Diffusionsvorgang und Hemmhofgrösse

Hemmhöfe entstehen infolge einer Diffusion des Antiseptikums in das Agar-Gel. Das Ausmaß der Diffusion und damit die Grösse des Hemmhofes ist abhängig von der Diffusionsgeschwindigkeit des Wirkstoffes, dem Diffusionskoeffizienten des Nähragars und der zur Verfügung stehenden Diffusionszeit. Die Diffusionsgeschwindigkeit des Wirkstoffes und der Diffusionskoeffizient des Agars sind gegebene Faktoren. Sie sind abhängig von der Temperatur, von Art und Konzentration des Wirkstoffes, sowie von der Zusammensetzung des Nähragars (12, 13, 14, 28, 37).

Die Diffusionszeit, d.h. die Zeitspanne in welcher der aus der Salbe abgegebene Wirkstoff in den Agar diffundieren kann, ehe ein Bakterienrasen sichtbar wird, ist begrenzt durch die Latenzzeit des Inoculums. Dieser Zeitraum, welcher zwischen Beginn der Bebrütung einer frischen Testplatte und Sichtbarwerden des Bakterienrasens verstreicht (38), ist abhängig von der Wachstumsgeschwindigkeit des Teststammes und beträgt bei Staph.aureus SG 511 bei 37°C etwa 6 Stunden.

Verlängert man künstlich die Latenzzeit durch Aufbewahrung der Testplatten bei einer Temperatur, welche kein oder stark verlangsamtes Wachstum zulässt, so ergeben sich bei späterer Bebrütung grössere Hemmhöfe, da der Wirkstoff während dieser Wachstumspause ungehindert diffundiert (siehe Abb.14).

Bei der Untersuchung von Salben erweist sich die Ausnutzung eines solchen Diffusionsvorsprungs als zweckmässig.

Gerade bei Salben mit geringer Abgabefreudigkeit werden die Hemmhöfe entsprechend grösser und lassen sich besser auswerten.

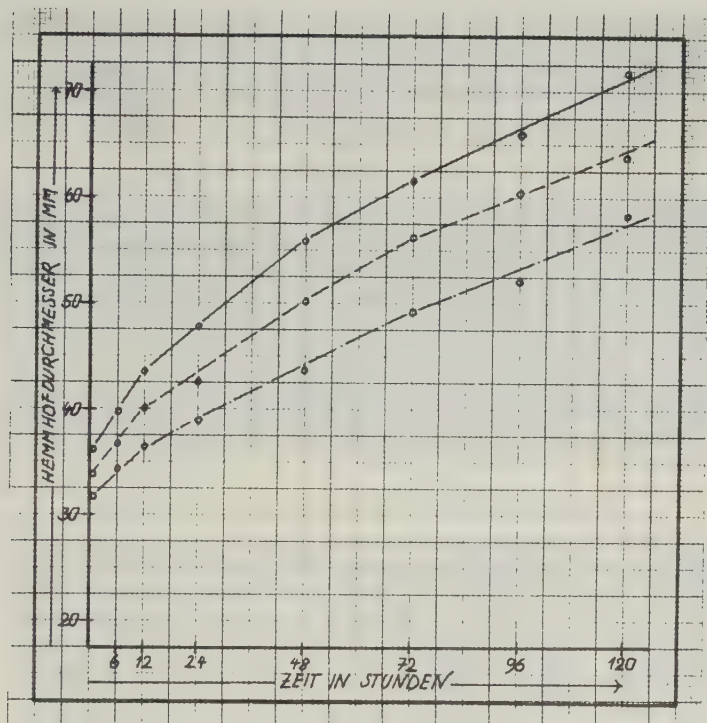


Abbildung 14

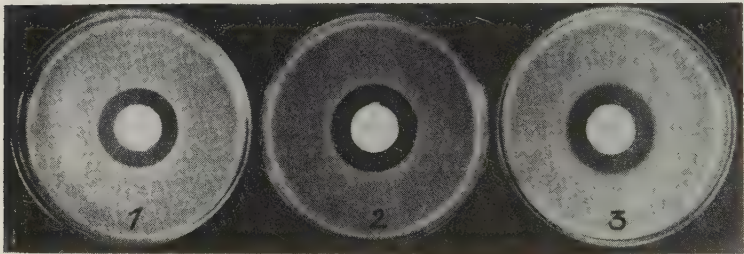
Der Einfluss des Diffusionsvorsprungs auf die Hemmhofgrösse einer Phenylquecksilber-azetat-Salbe ^{†)}

- 1) Phenylquecksilberazetat 0,005% o---o
- 2) Phenylquecksilberazetat 0,01 % o---o
- 3) Phenylquecksilberazetat 0,03 % o---o

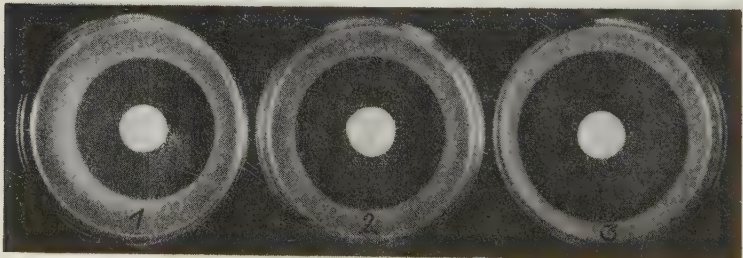
^{†)} Grundlage: Eucerin cum Aqua aa

Die Einschaltung des Diffusionsvorsprungs erfolgt durch Lagerung der mit den Salben beschickten Testplatten im KÜhlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$. Bei dieser Temperatur findet kein Wachstum des Inoculums statt.

Die Randschärfe der entsprechenden grösseren Hemmhöfe entspricht derjenigen, welche nach Sofort-Bebrütung auftritt. Auch nach 4 Tagen Diffusionsvorsprung lassen sich klare, gut auswertbare Hemmhöfe erzielen (siehe Abb.15).



Hemmhöfe nach normaler Sofort-Bebrütung



Hemmhöfe nach Einschaltung eines
Diffusionsvorsprungs von 4 Tagen

Abbildung 15

Der Einfluss eines Diffusionsvorsprungs auf die Hemmhofgrösse ⁺)

⁺) Grundlage und Wirkstoff-Konzentrationen wie bei Abbildung 14, Seite 43.

Bei einer Gegenüberstellung der verschiedenen Varianten des Agar-Diffusionstestes unter Einschaltung eines Diffusionsvorsprungs bestätigen sich die Ergebnisse der Tabelle XIV, Seite 41):

Auch bei Einschaltung eines Diffusionsvorsprungs zeigt die "Cup"-Methode mit homogener Tiefenbeimpfung die günstigsten Resultate (siehe Tabelle XV).

Tabelle XV

Überprüfung der gebräuchlichsten Methoden unter Einschaltung eines Diffusionsvorsprungs von 4 Tagen +)

Untersuchungsmethode	Hemmhofdurchmesser Mittelwerte in mm		Durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert in mm	
	Serie IV	Serie V	Serie IV	Serie V
Homogene Tiefenbeimpfung Cup-Meth.	63,9	62,15	0,72	0,65
Homogene Tiefenbeimpfung Auflege-Methode	58,6	59,1	0,32	0,80
Oberflächenaus-saat Cup-Meth.	67,05	64,6	1,25	1,43
Oberflächenaus-saat Auflege-Methode	64,75	62,05	0,79	0,76

+) Die Mittelwerte resultieren aus je 10 Einzeluntersuchungen
 Testsalbe: Phenylquecksilberazetat 0,005% in Eucerin c.
 Aqua aa

3) Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse durch die Arbeitstechnik

Neben den bereits besprochenen Faktoren muss beim Agar-Diffusionstest eine Reihe weiterer Gegebenheiten Berücksichtigung finden (20, 28, 37, 40, 41, 62):

a) Zusammensetzung und Schichtdicke des Agars

Voraussetzung für eine ausreichende Konstanz der Untersuchungsergebnisse ist die Verwendung eines geeigneten, standardisierten Nähragars (38, 68). In gewissen Fällen, z.B. bei der Untersuchung von Sulfonamidsalben, ist eine Zusammensetzung an bestimmte Voraussetzungen gebunden (9, 71). Der Einfluss der Schichtdicke des Agars findet in der Literatur eine unterschiedliche Beurteilung (28, 39).

Unsere Untersuchungen lassen den Einfluss der Schichtdicke des Agars auf die Grösse der Hemmhöfe deutlich erkennen (siehe Tabelle XVI):

Mit zunehmender Schichtdicke des Agars vermindert sich der Durchmesser der Hemmhöfe.

Tabelle XVI

Der Einfluss der Schichtdicke des Agars auf die Hemmhöfgrösse *)

Vor- diffu- sions- zeit	Konzentration des Antiseptikums					
	0,005%		0,01%		0,03%	
	Schichtdicke des Agars					
	10 mm	20 mm	10 mm	20 mm	10 mm	20 mm
	Hemmhofdurchmesser in mm					
Sofort- bebrü- tung	31,25	30,25	33,50	31,85	34,50	35,00
1 Tag	38,25	35,17	41,10	38,83	47,00	43,30
4 Tage	48,00	41,87	55,40	49,00	66,50	61,12

*) Testsalbe: Phenylquecksilberazetat in Eucerin c. Aqua aa

Zur Erzielung sicherer Ergebnisse ist daher die exakte Dosierung der verwendeten Agarmenge unbedingt erforderlich, wobei Petrischalen mit planer Bodenfläche zu bevorzugen sind.

b) Teststamm und Einsaatdichte

Als Teststamm fand bei allen Untersuchungen *Staphylococcus aureus* SG 511 Verwendung.

Die zur Einsaat gelangende Keimmenge beeinflusst die Grösse der Hemmhöfe, da bei grösserer Einsaatdichte eine Beschleunigung des Keimwachstums erfolgt (38). Bei der Untersuchung von Salben interessieren die Grenzen, innerhalb welcher Abweichungen der Hemmhofgrössen durch Verwendung unterschiedlicher Keimengen auftreten.

Tabelle XVII

Die Abhängigkeit der Hemmhofgrösse von der Einsaatdichte ^{†)}

Verdünnung d. Keimbouillon	Wirkstoffkonzentration 0,005%				Wirkstoffkonzentration 0,03%			
	Diffusionsvorsprung in Tagen				Diffusionsvorsprung in Tagen			
	0	1	2	4	0	1	2	4
	Hemmhofdurchmesser in mm							
1/50	32,5	41,0	47,5	57,3	37,0	50,5	58,5	71,3
1/250	33,8	43,0	48,9	58,0	38,0	51,5	59,3	72,3
1/500	34,3	44,3	49,0	59,8	38,0	52,2	60,7	75,5

Mit zunehmender Verdünnung der Bouillonkultur erfolgt eine Vergrösserung der Hemmhöfe.

^{†)} Salbengrundlage siehe Abbildung 14, Seite 43

Diese Abhängigkeit zeigt sich sowohl bei sofortiger Bebrütung als auch nach Einschaltung eines Diffusionsvorsprungs. Die weitgehende Einhaltung konstanter Einsaatmengen ist daher zu beachten.

c) Der Einfluss der Temperatur bei der Herstellung von homogen beimpftem Agar

Die Herstellung von homogen beimpftem Agar muss innerhalb eines schmalen Temperaturbereiches erfolgen. Nach oben ist dieser durch eine mögliche Schädigung der Testkeime, nach unten durch den etwa bei 42°C beginnenden Erstarrungsbereich des Nähragars begrenzt. In der Regel gilt 45°C als Mischtemperatur; in verschiedenen Fällen arbeitet man - immer bei Verwendung von Staph.aureus - jedoch auch bei 50°C , ja sogar bei 56°C (19, 63).

Gegen das Verfahren der homogenen Tiefenbeimpfung werden andererseits die Bedenken erhoben, dass Keimschädigung und damit unkontrollierbare Beeinflussung der Hemmhofgrösse erfolgen kann (28). Tatsache ist, dass beim Anlegen grösserer Testserien eine längere Verweildauer des Keimmaterials im geschmolzenen Agar kaum zu vermeiden ist.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, dass eine Mischtemperatur von 45°C innerhalb einer Stunde keine Schädigung der Testkeime bewirkt.

Höhere Temperaturen als 45°C führen zu einer Schädigung der Keimeinsaat. Mit der Länge der Temperatur-Einwirkung nimmt die Grösse der Hemmhöfe zu.

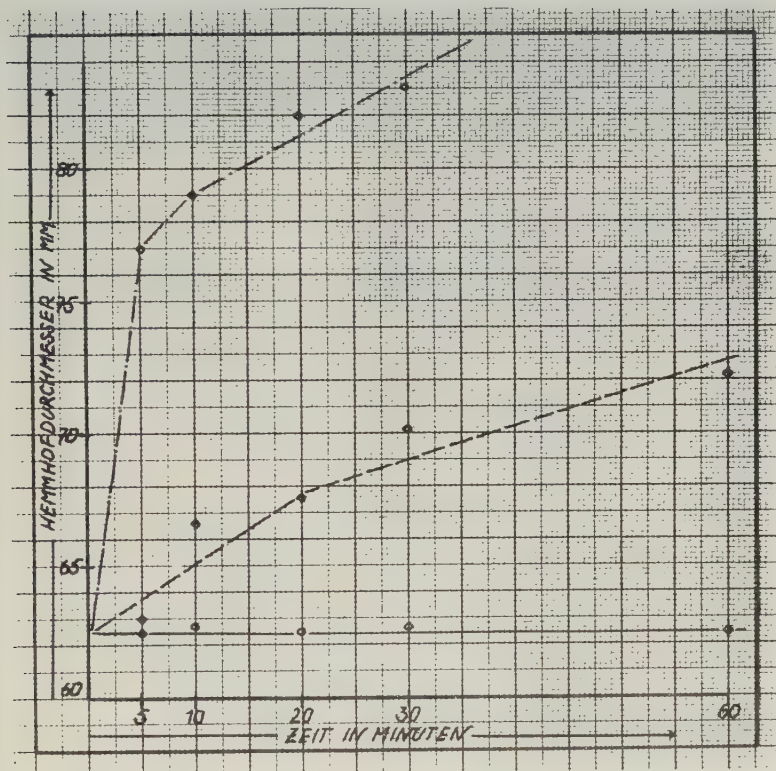


Abbildung 16

Der Einfluss der Mischtemperatur
auf die Hemmhofgrösse ^{†)}

Mischtemperatur: 45°C o—o
 50°C o----o
 55°C o—·—o

^{†)} Testsalbe: Phenylquecksilberazetat 0,03 in Eucerin c.
 Aqua aa.

d) Aufbewahrungszeit und Lagerung der Testplatten

Konstanz der Werte wurde nur innerhalb einer geschlossenen Plattenserie erreicht. Für die Durchführung umfangreicherer Untersuchungen ist daher die einmalige Herstellung einer entsprechend grossen Anzahl von Testplatten notwendig. Die Lagerung der Testplatten erfolgt dabei im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$.

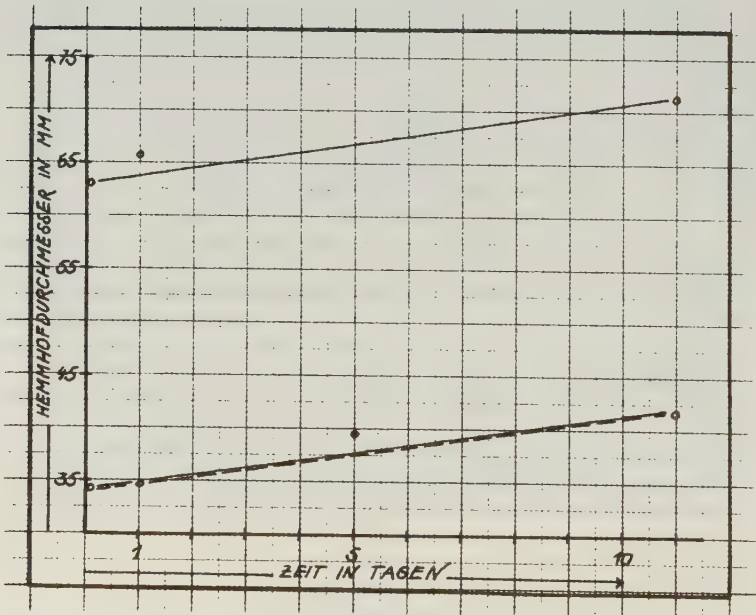


Abbildung 17

Der Einfluss der Aufbewahrungszeit
auf die Hemmhofergrösse [†])

Bei Sofort-Bebrütung: o---o
Bei 4 Tage Diffusionsvorsprung: o—o

[†]) Testsalbe: Phenylquecksilberazetat 0,005% in Eucerin c.
Aqua aa

Es zeigt sich, dass die Kùhlschrank-Lagerung zu Abweichungen der Hemmhofdurchmesser führt.

Daher müssen angebrochene Serien von Testplatten innerhalb von 24 Stunden aufgearbeitet werden. Die Art der Lagerung (Bodenfläche nach unten oder oben) lässt trotz unterschiedlicher Kondenswasserbildung keinen Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse erkennen.

e) Der Einfluss der Salbenmenge auf die Hemmhofgrösse

Ein Einfluss auf die Hemmhofgrösse lässt sich nicht feststellen. Die Einhaltung einer genauen Dosierung (42,54,58) erscheint daher, in Übereinstimmung mit K.MÜNZEL und R.AMMANN (51) sowie R.FRANK und G.STARK (24), unnötig.

Tabelle XVIII

Der Einfluss der Salbenmenge
auf die Hemmhofgrösse ^{†)}

Diffusions- vorsprung in Tagen	S a l b e n m e n g e	
	0,25g	0,50g
	Hemmhofdurchmesser in mm	
0	32,5	32,5
1	42,6	43,3
2	48,9	48,7
3	56,6	57,0
4	59,1	59,8

^{†)} Testsalbe: Phenylquecksilberazetat 0,005% in Eucerin c.
Aqua aa

4) Eine modifizierte Methode des Agar-Diffusionstestes

Unsere Untersuchungen über das Verhalten kationenaktiver Antiseptika in Unguentum emulsificans aquosum wurden unter Anwendung folgender Arbeitstechnik durchgeführt:

a) Keimeinsaat

Der auf Schrägagar gezüchtete Teststamm Staph.aureus SG 511 wird auf 20 ccm sterile Nährbouillon MERCK Standard I überimpft und 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Diese Keimbouillon wird in Tagesabständen weitere 2 mal auf 20ccm Nährbouillon überimpft; die 3.Bouillonkultur findet zur Herstellung des homogen beimpften Agars Verwendung. Sie wird dem geschmolzenen Agar im Verhältnis 1:100 hinzugefügt.

b) Herstellung der Testplatten

Zur Herstellung dient Nähragar MERCK Standard I. Nach konstant durchgeführter Sterilisation (15 Minuten bei 120°C) wird der Nährboden in einem Warmwasserthermostaten (A) auf 45°C abgekühlt. Als Gefäße finden Rollrandflaschen 500 ccm (B) mit Raupertverschluss Verwendung. Durch diese ist die



Abbildung 18

Arbeitseinrichtung zur Dosierung
des beimpften Agars

Konstanz des Flüssigkeitsvolumens bei der Sterilisation sowie eine bequeme und sterile Durchführung der Keimvermischung gewährleistet. Dem abgekühlten Nährboden wird die Bouillonkultur hinzugefügt und durch ausgiebiges Umschütteln gleichmässig verteilt. Der Thermostat dient zur weiteren, bis zum Ausgiessen notwendigen Temperierung des homogen beimpften Agars.

Zur genauen Dosierung des Agars (für Petrischalen $\varnothing$ 10 cm je 13 ccm entsprechend ca. 2 mm Schichtdicke) giesst man den Agar in eine, durch einen HAAKE-Thermostaten (C) auf 45°C gehaltene Wassermantel-Bürette von 250 ccm Inhalt (D). Als Petrischalen finden Pressglasschalen $\varnothing$ 10 cm Verwendung (geblasene Schalen besitzen ungleichmässige Bodenflächen und sind daher wenig geeignet).

Aus dem erstarrten Agar stanzt man mit einem sterilisierten Korkbohrer (vernickelt), $\varnothing$ 17 mm, im Zentrum der Schale ein kreisförmiges Stück Agar aus ("cup"). Die Grösse der Hemmhöfe erlaubte es bei den vorliegenden Untersuchungen nur in Ausnahmefällen mehrere Cups auf einer Platte unterzubringen. Die so präparierten Schalen werden sofort mit Salbe beschickt oder im Kühlschrank aufbewahrt ($+ 4^{\circ}\text{C}$) und innerhalb 24 Stunden verbraucht. Jede Untersuchungsreihe wird mit den Testplatten einer Herstellungs-Charge bestritten.

c) Die Beschickung der Testplatten

Die Applikation der Salbe erfolgt mit einem Pastillenstecher von gleichem Durchmesser wie der Korkbohrer. Um ein Festkleben der mit einem Spatel eingestrichenen Salbe am Stempel des Pastillenstechers zu verhindern, wird zwischen Stempel und Salbe eine Filtrierpapier-Scheibe eingelegt. Die Salbenmenge lässt sich durch Einstellen der Stempelhöhe der Schichtdicke des Agars entsprechend festlegen. Durch leichtes Nachdrücken mit einem Glasstab wird dafür gesorgt, dass sich nach Einsenken in die ausgestanzte Vertiefung Agar- und Salbenrand gleichmässig berühren.

Gelangen neben Salben auch wässrige Lösungen zur Austestung, so müssen diese - im Gegensatz zu den Salben - genau dosiert werden (in der vorliegenden Arbeit jeweils 0,25 ccm).

d) Einschaltung eines Diffusionsvorsprungs, Bebrütung und Auswertung

Die beschickten Testplatten werden bei Einschaltung eines Diffusionsvorsprungs sofort in den Kühlschrank ($+ 4^{\circ}\text{C}$) gebracht oder, bei Sofort-Bebrütung, unmittelbar anschliessend bei 37°C im Brutschrank 24 Stunden inkubiert. (Bei den vorliegenden Untersuchungen erfolgte bei 8-Oxychinolin-Sulfat Sofortbebrütung; bei allen anderen Antiseptika wurde ein Diffusionsvorsprung von 4 Tagen eingeschaltet.)

Die Auswertung der Hemmhöfe geschieht durch Abmessen des Gesamtdurchmessers mit einem Stechzirkel und Ablesen des Wertes an einem Millimeter-Maßstab. Für die Ermittlung eines Untersuchungsergebnisses sollen nicht weniger als 3 Austestungen herangezogen werden. (Soweit nicht anders angegeben liegen den vorliegenden Untersuchungsergebnissen jeweils die Mittelwerte von 5 Testplatten zugrunde.)

Die verwendeten Salbenhilfsstoffe wurden von den Firmen DEHYDAG Deutsche Hydrierwerke GmbH, Düsseldorf und ATLAS-GOLDSCHMIDT GmbH, Essen zur Verfügung gestellt.

Die untersuchten Arzneistoffe verdanken wir den Firmen
BYK-GULDEN-LOMBERG Gesellschaft mbH, Konstanz
CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Wehr/Baden
Dr.KARL THOMAE GmbH, Biberach/Riss
FARBWERKE HOECHST AG, Frankfurt(M)-Hoechst
TH.GOLDSCHMIDT AG, Essen
O.W.G.-CHEMIE GmbH, Kiel
SYNOCHEM-PRÄPARATE, Apotheker Gerhard JACOBY, Hamburg
ZYMA-BLAES AG, Chemische Fabrik, München.

Für das uns gezeigte liebenswürdige Entgegenkommen danken wir herzlich.

Tabelle XIX

Literatur zur Untersuchungstechnik von Salben

Technik der Salben-aufbrin-gung	Technik der Bakterien-Einsaat	
	Oberflächen-Aussaat	Homogene Tiefenbeimpfung
Auflege-Methode	OSCHATZ, M. 1954 (55)	REDDISH, G.F. 1927 (59) REDDISH, G.F. u. H. WALES 1929 (60) HUSA, W.Y. u. J.M. RADIN 1932 (33) SCHLUMPF, R. 1942 (65) ALDRICH, D.F. u. H.G. DEKAY 1945 (1) MACDONALD, L.H. u. R.E. HIMELICK 1948 (46)
<u>ohne</u> Basis-schicht		
<u>mit</u> Basis-schicht		BECHTOLD, C.L., E.A. LAWRENCE u. E.M. OWEN 1955 (4) (betr. antiseptische Seife)
Cup-Methode	MÜNDEL, K. u. R. AMMANN 1955 (51) +) GUNDERSEN, O. 1948 (31) RICHTER, G. 1957 (61)	PROUT, W.A. u. M. STRICKLAND 1937 (58) +) PROUT, W.A., M.S. EDDLEMAN u. R.G. HARRIS 1940 (57) BARON, B. u. H.G. DEKAY 1943 (3) DARLINGTON, C. u. E.P. GUTH 1950 (18) FLORESTANO, H.J., M.E. BAHLER u. S.F. JEFFRIES 1956 (23)
<u>ohne</u> Basis-schicht		
<u>mit</u> Basis-schicht		NEUROTH, M.L., C.O. LEE, J.E. CHRISTIAN u. G.L. JENKINS 1946 (53) KOLSTAD, C.K. u. C.O. LEE 1953 (42) BARKER, D.Y., H.G. DEKAY u. J.E. CHRISTIAN 1956 (2) KUTOB, S.D., W.J. SHEFFIELD u. H.M. BURLAGE 1956 (43)

+) Der Boden der ausgestanzten Vertiefungen (cup) wird mit geschmolzenem Agar (2-3 Tropfen) verschlossen.

D. Literaturverzeichnis

- 1) ALDRICH, D.F., and H.G.DEKAY, J.Amer.pharmac.Assoc.,
Sci.Ed.34, 17 (1945)
- 2) BARKER, D.Y., H.G.DEKAY, and J.E.CHRISTIAN, J.Amer.
pharmac.Assoc.Sci.Ed.
45, 527 (1956)
- 3) BARON, B., and H.G.DEKAY, J.Amer.pharmac.Assoc.,Sci.
Ed.32, 294 (1943)
- 4) BECHTOLD, C.L.,E.A.LAWRENCE, and E.M.OWEN, Proc.Sci.
sect.Toilet Goods Assoc.
- 5) BEUTNER, W. und K.STEIGER-TRIPPI, Subsidia Pharmac.
2, 1 (1958)
- 6) BOUCHARDY, M. und A.MIRIMANOFF, Pharmac.Acta Helvetiae
26, 69 (1951)
- 7) BRUCE, C.B., and L.MITCHELL, J.Amer.pharmac.Assoc., Sci.
Ed. 41, 654 (1952)
- 8) BÜCHI, J. und R.SCHLUMPF, Pharmac.Acta Helvetiae 19,
180 (1944)
- 9) BUNGE, R. und P.KLEIN, Medizin und Chemie Bd.V S.91
Verlag Chemie, Weinheim
1956
- 10) BURNSIDE, C.B., and R.A.KUEVER, J.Amer.pharmac.Assoc.,
Sci.Ed. 29, 373 (1940)
- 11) CLARK, G.H., and G.E.DAVIES, J.Pharm.Pharmacol. 1, 521
(1949)
- 12) COOPER, K.E., Nature 176, 510 (1955)
- 13) COOPER, K.E., and A.H.LINTON, J.Gen.Microbiol. 7, 8 (1952)
- 14) COOPER, K.E., and O.WOODMAN, J.Path.and Bact. 58,75 (1946)
- 15) CZETSCH-LINDENWALD, H.v. und J.MOESE, Arzneim.Forsch.
5, 9 (1955)
- 16) CZETSCH-LINDENWALD, H.v. und F.SCHMIDT-LA BAUME, Salben-
Puder-Externa, Springer-
Verlag 1950, Berlin-Göttin-
gen-Heidelberg
- 17) CZETSCH-LINDENWALD, H.v. und F.SCHMIDT-LA BAUME, Die äus-
seren Heilmittel 1950-1955,
Springer-Verlag Berlin-G.-H.
1956, S.92
- 18) DARLINGTON, C., and E.P.GUTH, J.Amer.pharmac.Assoc., Pr.Ed.
11, 82 (1950)
- 19) DENAVARRE, M.G., and H.E.BAILEY, J.Soc.Cosmet.Chem. 7,427
(1956)
- 20) DIMMLING, Th., Ärztl.Wschr. 8, 633 (1953)

- 21) ELLÖ, I., Acta pharmac.hung. 26, 112 (1956)
- 22) FIERO, G.W., and T.A.LOOMIS, J.Amer.pharmac.Assoc.,
Pr.Ed. 3, 170 (1942)
- 23) FLORESTANO, H.J., M.E.BAHLER, and S.F.JEFFRIES,
J.Amer.pharmac.Assoc., Sci.
Ed. 45, 540 (1956)
- 24) FRANK, R. und G.STARK, Pharmac.Acta Helvetiae 29, 81 (1954)
- 25) FREUDWEILER, R., Festschrift P.CASPARIS, Zürich 1949 S.77
- 26) GERDING, P.W., and G.J.SPERANDIO, J.Amer.pharmac.Assoc.,
Pr.Ed. 15, 356 (1954)
- 27) GERSHENFELD, L. and R.E.BRILLHART, Amer.J.Pharm. 111, 430
(1939)
- 28) GILLISSEN, G., Zbl.Bakter. I Orig. 161, 482 (1954)
- 29) GOLDSTEIN, S.W., J.Amer.pharmac.Assoc., Pr.Ed. 14, 111
(1953)
- 30) GOTTSACKER, E., Therapeut.Ber. 30, 263 (1958)
- 31) GUNDERSEN, O., Dissertation ETH Zürich 1948
- 32) HICKMANN, E., H.M.BURLAGE, and W.R.LLOYD, J.Amer.pharmac.
Assoc., Pr.Ed. 17, 517 (1956)
- 33) HUSA, W.Y., and J.M.RADIN, J.Amer.pharmac.Assoc., Sci.Ed.
21, 861 (1932)
- 34) JERKOVITS, J., Fette-Seifen-Anstreichmittel 60, 44 (1958)
- 35) Joint A.B.C.M.-S.A.C.Committee on Methods for the analysis
of trade effluents, Analyst
82, 826 (1957)
- 36) ISAO SHIBASAKI, and G.TERUI, J.Fermentation Technol.Japan
34, 297 (1956)
- 37) KLEIN, P., Bakteriologische Grundlagen der chemotherapeu-
tischen Laboratoriumspraxis, Springer-Verlag
1957 Berlin-Göttingen-Hei-
delberg
- 38) KLEIN, P., Zbl.Bakter. I Orig. 159, 301 (1952)
- 39) KLEIN, P. und E.HOLLENDER, Zbl.Bakter. I Orig. 163, 518
(1955)
- 40) KLEIN, P. und H.SOUS, Dtsch.med.Wschr. 78, 1219 (1953)
- 41) KÖRNLEIN, M., A.LEMBKE und H.MÖLLER, Zbl.Bakter. I Orig.
158, 17 (1952), Zbl.Bakter.
I Orig. 159, 146 (1952)
- 42) KOLSTAD, C.K., and C.O.LEE, J.Amer.pharmac.Assoc., Sci.Ed.
44, 5 (1955)
- 43) KUTOB, S.D., W.J.SHEFFIELD, and H.M.BURLAGE, J.Amer.pharmac.
Assoc., Pr.Ed. 17, 514 (1956)
- 44) LEHMANN, H. und W.GRANERT, Schweiz.Apotheker-Ztg. 95, 727
(1957)

- 45) LESSHAFT jr., Ch.T., and G.DEKAY, J.Amer.pharmac.Assoc.,
Pr.Ed. 17, 519 (1956)
- 46) MACDONALD, L.H., and R.E.HIMBLICK, J.Amer.pharmac.Assoc.,
Sci.Ed. 37, 368 (1948)
- 47) MARCUS, A.D., E.WETSTEIN, and M.RUDERMAN, J.Amer.pharmac.
Assoc., Pr.Ed. 17, 453
(1956)
- 48) MASARU AOKI, A.KAMATA, J.YOSHIOKA, and T.MATSUJAKI,
J.Pharm.Soc.Japan 76, 939
(1956)
- 49) MILLER, H.O., J.Amer.pharmac.Assoc., Pr.Ed. 13, 657 (1952)
- 50) MOORE, C.D., and R.B.HARDWICK, Manufact.Chemist.pharmac.
fine chem.Trade J. 27, 305
(1956)
- 51) MÜNDEL, K. und R.AMMANN, Pharmac.Acta Helvetiae 30, 1 (1955)
- 52) NAKASHIMA, J.Y., and O.H.MILLER, J.Amer.pharmac.Assoc.,
Pr.Ed. 16, 496 (1955)
- 53) NEUROTH, M.L., C.O.LEE, J.E.CHRISTIAN, and G.L.JENKINS,
J.Amer.pharmac.Assoc.,
Sci.Ed. 35, 321 (1946)
- 54) O'BRIEN, F.J., and W.J.BONISTEEL, J.Amer.pharmac.Assoc.,
Sci.Ed. 30, 191 (1941)
- 55) OSCHATZ, M., Dtsch.med.Wschr. 79, 970 (1954)
- 56) Pharmacopoea Helvetica V, Suppl.III 1958
- 57) PROUT, W.A., M.S.EDDLEMAN, and R.G.HARRIS, J.Amer.pharmac.
Assoc., Sci.Ed. 29, 372
(1940)
- 58) PROUT, W.A., and M.STRICKLAND, J.Amer.pharmac.Assoc., Sci.
Ed. 26, 730 (1937)
- 59) REDDISH, G.F., J.Amer.pharmac.Assoc., Sci.Ed. 16, 652 (1927)
- 60) REDDISH, G.F., and H.WALES, J.Amer.pharmac.Assoc., Sci.Ed.
18, 576 (1929)
- 61) RICHTER, G., Arzneim.Forsch. 7, 419 (1957)
- 62) RICKELS, K., Zbl.Bakter. I Orig. 162, 112 (1955)
- 63) SCIARRA, J.J., D.E.SHAY, and J.AUTIAN, J.Amer.pharmac.
Assoc., Sci.Ed. 47, 180
(1958)
- 64) SPRINGER, R. und K.E.QUENTIN, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.
pharmaz.Ges. 285/57, 471
(1952)
- 65) SCHLUMPF, R., Dissertation ETH Zürich 1942
- 66) Stada-Verzeichnis 10.Auflage, Dortelweil/Wetterau S.25
- 67) THOEST, M.T., A.BOLLE und A.MIRIMANOFF, Bull.soc.pharm
Bordeaux 94, 113 (1955)

- 68) TOBIE, W.C., and G.B.AYRES, J.Bakter. 47, 109 (1944)
- 69) ULLMANN, E., Dtsch.Apotheker Ztg. 24, 535 (1954)
- 70) VALKO, E.I., and A.S.DUBOIS, J.Bakter. 47, 15 (1944)
- 71) WITTERN, A., Materia Medica Nordmark Wiss.Beibl. 13 (1955)
- 72) WOOD, J.A., and L.W.RISING, J.Amer.pharmac.Assoc., Sci.Ed.
42, 481 (1953)
- 73) WURZSCHMITT, B., Z.analyt.Chem. 130, 105 (1949/50).

Lebenslauf

Am 6.Mai 1931 wurde ich in Rehau/Oberfranken als Sohn des Lederhändlers Karl THOMA und seiner Ehefrau Margarete, geb.SCHERZER, geboren.

Von 1937 bis 1941 besuchte ich in Rehau die Volksschule, anschliessend die Oberrealschule in Hof. An dieser Anstalt legte ich im Juni 1950 die Reifeprüfung ab.

Im Oktober 1950 trat ich in die Ludwigs-Apotheke in Straubing als Apotheker-Praktikant ein und beendete die Praktikantenzeit mit dem pharmazeutischen Vorexamen in Regensburg im September 1952.

Im Winter-Semester 1952/53 begann ich das pharmazeutische Studium an der Universität München und legte dort am 1.Dezember 1955 das pharmazeutische Staatsexamen ab.

Anschliessend erfolgte die Ausführung der vorliegenden Dissertation unter Leitung von Frau Privatdozentin Dr.Elsa ULLMANN am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München. Am gleichen Institut verwaltete ich seit dem Sommer-Semester 1957 die Stelle eines wissenschaftlichen Assistenten.

